

Penanganan Rodensia dalam Penelitian Sesuai Kaidah Kesejahteraan Hewan

Edisi Revisi



Susan M Noor, dkk.

**Penanganan Rodensia dalam Penelitian Sesuai Kaidah
Kesejahteraan Hewan**

Penanganan Rodensia dalam Penelitian Sesuai Kaidah Kesejahteraan Hewan

Tim Penyusun:

Dr. drh. Susan M. Noor, M.VSc.
Dr. drh. N.L.P. Indi Dharmayanti, M.Si.
Dr. drh. Sutiastuti Wahyuwardani, M.Si.
Dr. drh. Sri Muharsini
drh. Triwardhani Cahyaningsih, M.Si.
drh. Yeni Widianingrum
Prita Kartika Sukmasari, S.Pt.
Muhammad Syawal, S.Pt., M.Si.
Arie Febretrisiana, S.Pt., M.Si.
Ir. Artaria Misniwaty
Dr. Bess Tiesnamurti, M.Sc.



Penanganan Rodensia dalam Penelitian Sesuai Kaidah Kesejahteraan Hewan

Susan M Noor

@2022 IAARD PRESS

Hak cipta dilindungi Undang-undang ada pada Penerbit IAARD PRESS. Hak Penerbitan ada pada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Dilarang menggandakan sebagian atau seluruh isi buku ini dengan cara apapun tanpa izin dari Penerbit.

Katalog dalam terbitan (KDT)

PENANGANAN Rodensia dalam penelitian sesuai kaidah kesejahteraan hewan/penyusun, Susan M. Noor...[et al]. -- Jakarta: IAARD Press, 2022.

xiv, 111 hlm.; tab., ill; 21 cm.

ISBN: 978-602-344-326-0

1. Penanganan 2. Hewan coba 3. Rodensia
I. Judul II. Susan M. Noor. III. Dharmayanti, N.L.P.

616-092.9:599.32

Tim Editor:

Dr. drh. Susan M. Noor, M.VSc.

Dr. drh. Sutiastuti Wahyuwardani, M.Si.

Dr. Ir. Bachtar Bakrie, M.Sc.

Dr. drh. Wasito, M.Si.

Dr. Ir. Lisa Praharani, M.Sc.

drh. Imas Sri Nurhayati, M.Si.

drh. Prima Mei Widiyanti, M.Si.

Tata letak:

Artaria Misniwaty

Ruliansyah Lubis

Rancangan sampul:

Ruliansyah Lubis

Penerbit:

IAARD Press

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Jalan Ragunan No. 29, Pasar Minggu, Jakarta 12540

Telp. +6221-7806202, Faks.: +6221-7800644

e-mail: iaardpress@pertanian.go.id

<https://press.litbang.pertanian.go.id/>

Anggota IKAPI No.: 445/DKI/2012

KATA PENGANTAR

Salah satu tugas dari Tim Komisi Kesejahteraan Hewan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (KKHB) adalah mempersiapkan Buku Petunjuk Teknis tentang Perawatan dan Penggunaan berbagai jenis hewan yang digunakan sebagai hewan coba dalam kegiatan penelitian dan pengkajian. Petunjuk Teknis untuk Perawatan dan Penggunaan Hewan Rodensia sebagai Hewan Coba telah diterbitkan pertama kali pada tahun 2016. Sehubungan dengan berjalannya waktu dan terjadinya perkembangan serta kemajuan ilmu pengetahuan, maka telah dilakukan revisi Buku Petunjuk Teknis Hewan Rodensia. Revisi ini dimaksudkan untuk perbaikan dan penyempurnaan terhadap beberapa hal yang belum tercantum pada buku yang diterbitkan sebelumnya.

Semoga buku petunjuk teknis ini dapat berguna dan bermanfaat bagi para peneliti atau para pihak yang berkepentingan lainnya dalam penggunaan hewan rodensia sebagai hewan coba. Diharapkan agar buku ini dapat membantu dalam kegiatan penelitian/pengkajian untuk memperlakukan hewan rodensia sesuai dengan standar perawatan dan kesejahteraan hewan yang berlaku.

Berbagai masukan, kritik dan saran dari para pembaca masih sangat diharapkan agar buku petunjuk teknis ini dapat menjadi lebih sempurna dan sesuai dengan yang diharapkan dan ketentuan yang berlaku.

Bogor, Oktober 2021
Kepala Pusat

Dr. drh. Agus Susanto, M.Si.

PRAKATA

Buku “Penanganan Rodensia dalam Penelitian Sesuai Kaidah Kesejahteraan Hewan” adalah petunjuk teknis dalam perawatan dan penanganan rodensia sebagai objek penelitian/pengkajian sesuai dengan kaidah kesejahteraan hewan. Penyusunan buku ini bertujuan untuk pemutakhiran informasi terkait penanganan dan penggunaan rodensia sehingga mempermudah para peneliti di Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian dalam pelaksanaan penelitian.

Rodensia yang dibahas dalam buku ini terdiri atas mencit, tikus, kelinci, dan marmot yang meliputi perawatan, penanganan dan pengendalian, koleksi darah, administrasi cairan dan obat, anestesi, dan eutanasia. Topik buku ini ditetapkan atas dasar keinginan untuk menyebarluaskan hasil pembelajaran positif penyelenggaraan kegiatan penelitian/pengkajian penggunaan rodensia yang sesuai dengan prinsip-prinsip kesejahteraan hewan.

Buku ini juga merupakan ekspresi kapabilitas para penulis dengan muatan materi yang sangat bermanfaat untuk menambah wawasan bagi para pembaca yang berminat pada penelitian/pengkajian penggunaan rodensia karena merupakan hasil tinjauan secara ilmiah. Penulis berharap agar buku ini dapat menjadi referensi bagi para peneliti, teknisi litkayasa, dan petugas kesehatan hewan yang berkepentingan.

Penulis merasa bahwa buku ini masih jauh dari sempurna. Sebab itu kritik, saran dan masukan dari pembaca sangat diharapkan demi perbaikan di masa yang akan datang.

Akhir kata, kami sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan serta dalam penyusunan buku ini dari awal hingga akhir.

Bogor, Oktober 2021
Editor

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
PRAKATA	VII
DAFTAR ISI.....	IX
DAFTAR TABEL.....	XI
DAFTAR GAMBAR	XIII
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Dasar Pertimbangan.....	4
C. Tujuan	4
II. HEWAN MODEL RODENSIA	5
A. Mencit	6
B. Tikus	32
C. Kelinci	54
D. Marmot	74
III. PERAWATAN PER-OPERATIF DAN PASCA OPERATIF RODENSI.....	91
IV. PEMANTAUAN <i>ENDPOINT</i> DAN <i>HUMAN ENDPOINT</i>	93
PENUTUP	95
DAFTAR PUSTAKA	97
GLOSARIUM	102
INDEKS SUBJEK.....	109

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tipe administrasi, ukuran jarum dan volume cairan yang direkomendasikan pada mencit	19
Tabel 2. Rekomendasi dosis berbagai agen anestesi pada mencit	26
Tabel 3. Dosis Anestesi Inhalasi yang direkomendasikan untuk Mencit	28
Tabel 4. Rekomendasi analgesia pada mencit	29
Tabel 5. Dosis antibiotik untuk mencit	30
Tabel 6. Volume darah yang dapat dikoleksi berdasarkan berat badan (BB) (Anonymous 2021)	43
Tabel 7. Keuntungan dan Kerugian Berdasarkan Lokasi Pengambilan Darah	44
Tabel 8. Agen dan dosis anestesi pada tikus	49
Tabel 9. Rekomendasi jenis analgesik pada tikus (ULAM 2020)	50
Tabel 10. Dosis antibiotik untuk tikus	51
Tabel 11. Lokasi untuk koleksi darah, ukuran jarum dan volume pada kelinci.....	64
Tabel 12. Anestesi yang digunakan pada kelinci.....	71
Tabel 13. Rekomendasi jenis analgesik pada kelinci	72
Tabel 14. Dosis antibiotik untuk kelinci	73
Tabel 15. Metode Eutanasia pada kelinci	74
Tabel 16. Koleksi darah marmot non terminasi dan terminasi.....	82
Tabel 17. Antibiotik dan dosis terapeutik yang aman pada marmot	86
Tabel 18. Indikasi rasa nyeri dan <i>distress</i> pada rodensia.....	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Cara mengangkat dan memegang mencit	13
Gambar 2.	Teknik injeksi <i>intraperitoneal</i> pada mencit.....	20
Gambar 3.	Teknik injeksi subkutan pada mencit.....	21
Gambar 4.	Injeksi intramuskuler pada mencit	22
Gambar 5.	Injeksi intravena pada pangkal ekor mencit.....	23
Gambar 6.	Cara memegang dan mengangkat tikus yang benar.....	39
Gambar 7.	Cara memegang kelinci	60
Gambar 8.	Cara mengangkat kelinci.....	61
Gambar 9.	Cara <i>restrain</i> kelinci menggunakan kain	61
Gambar 10.	<i>Restrainer</i> kelinci	63
Gambar 11.	Cara mengangkat marmot dengan kedua tangan	80
Gambar 12.	Teknik eutanasia CO ₂ dengan <i>chamber</i> pada marmot	89

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hewan model banyak digunakan dalam studi eksperimental pada berbagai cabang medis dan ilmu pengetahuan dengan pertimbangan bahwa penelitian tidak dapat diaplikasikan langsung pada manusia untuk alasan praktis dan etis. Sebagai contoh, hasil penelitian suatu obat sebelum diaplikasikan pada manusia harus diaplikasikan pada hewan untuk mempelajari efek kumulatif, dosis yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia, efek karsinogenik, teratogenik, mutagenik dan lain-lain, dengan menggunakan hewan model yang dirancang pada serangkaian uji toksitas (Peraturan Kepala BPOM Nomor 7 Tahun 2014).

Pemakaian hewan coba untuk penelitian klinis pada manusia telah memberikan kontribusi besar terhadap pemahaman tentang berbagai proses fisiologis dan patologis yang mempengaruhi manusia (Ferreira *et al.*, 2005), namun demikian dalam penggunaan hewan penelitian harus didasarkan pada prinsip-prinsip ilmiah, etika dan hukum (Popa *et al.*, 2015).

Rodensia atau hewan pengerat merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian, yaitu mencapai sekitar 69% karena murah dan mudah untuk ditangani, memiliki rentang hidup yang singkat, mudah beradaptasi pada kondisi sekitarnya dan mempunyai tingkat reproduksi yang cepat sehingga memungkinkan untuk penelitian proses biologis pada semua tahap siklus hidup. Namun, dalam pelaksanaannya banyak peneliti yang masih belum mengimplementasikan kesejahteraan hewan karena belum memahami atau menyadari pentingnya kesejahteraan hewan terkait dengan hasil penelitian bias sehingga tidak valid, sulit

mendapatkan sponsor penelitian, dan tidak diterima dalam jurnal tidak mencantumkan klirens etik. Nomor registrasi klirens etik akan diperoleh bila penelitian dijalankan sesuai dengan kaidah kesejahteraan hewan.

Pada buku ini akan dibahas penggunaan dan penanganan rodensia (mencit, tikus, marmot, kelinci) yang sesuai dengan kaidah kesejahteraan hewan terkait dengan kaidah 3R (*replacement/penggantian, reduction/pengurangan, dan refinement/pengayaan*) dan 5F (*freedom/kebebasan*): bebas dari rasa lapar dan haus, bebas dari rasa tidak nyaman, bebas dari rasa sakit dan penyakit, bebas mengekspresikan perilaku alaminya dan bebas dari rasa takut dan stres. Panduan ini dibuat oleh Tim Komisi Kesejahteraan Hewan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (KKHB) sebagai pedoman untuk menetapkan praktik-praktik terbaik dalam perawatan dan penggunaan hewan untuk tujuan ilmiah. Selain itu juga untuk menetapkan bahwa semua pihak yang terlibat dalam perawatan dan penggunaan hewan untuk tujuan ilmiah, harus bertanggung jawab sesuai hukum yang berlaku.

Penyusunan buku ini diawali dengan menentukan tema atau topik buku yang akan ditulis untuk membatasi tulisan agar tidak melebar dan penulisan yang berulang. Pembuatan tema, dimulai dari membuat rumusan dengan kesatuan gagasan yang menjadi landasan penyusunan buku untuk dapat mengembangkan tema buku yang terarah.

Bahan tulisan dikumpulkan dari buku, artikel atau jurnal terkait, selanjutnya dibuat kerangka tulisan yang berisi maksud dan tujuan penulisan buku dengan gagasan-gagasan yang disusun secara logis dan sistematis. Penulisan mengacu pada buku pedoman yang bersifat standar dari suatu negara yang telah diakui sebagai standar internasional yang dapat diakses secara on line seperti buku: *Institutional of Animal Care and Use*

Committee Guidebook (OLAW, 2002); *Guide for the care and use of laboratory animals* (ILAR, 1996) maupun buku pedoman yang sudah ada di Indonesia. Buku pedoman penanganan rodensia (tikus, mencit, kelinci dan marmut) menjelaskan karakteristik masing-masing hewan, manajemen sistem pemeliharaan dan penanganan hewan yang digunakan pada saat penelitian (pengambilan darah, anestesi, eutanasi dll.). Demikian juga peraturan-peraturan, regulasi yang ada baik internasional maupun nasional yang terkait dengan kesejahteraan hewan.

Selanjutnya kerangka tulisan dikembangkan untuk mempermudah dalam menyusun sebuah teks eksplanasi, dalam bentuk bab-bab buku. Bab-bab buku dikembangkan dengan menambahkan subbab-subbab dan penjelasan-penjelasan yang relevan sesuai pengetahuan penulis, kemudian diuraikan dalam beberapa paragraf. Penjelasan-penjelasan diperkaya dengan menambahkan literatur bersumber jurnal yang ter-update dan terindeks global maupun nasional. Buku Edisi 2 ini merupakan pengembangan dan penyempurnaan dari buku edisi sebelumnya, dengan menambahkan literatur-literatur dan bab-bab yaitu Perawatan Per-Operatif dan Pasca-Operatif Rodensia, Pemantauan *End Point* dan *Human End Point*), yang belum ada di edisi sebelumnya.

Panduan ini dapat digunakan oleh semua personel yang terlibat dalam perawatan hewan rodensia di fasilitas hewan. Panduan juga lebih difokuskan pada kesejahteraan hewan sebagai hewan coba dalam penelitian/pengkajian untuk memastikan kondisi pemeliharaan sesuai kebutuhan fisiologis dan perilaku hewan, sehingga dapat menghasilkan penelitian/pengkajian yang berkualitas.

B. Dasar Pertimbangan

Kebijakan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan) adalah memenuhi dan mematuhi semua kebijakan dan prosedur yang berlaku dalam penggunaan hewan coba sesuai kaidah kesejahteraan hewan (kesrawan). Peneliti yang memanfaatkan hewan coba dalam penelitian berkewajiban untuk mengetahui tata cara perawatan hewan coba sesuai panduan, sebelum melakukan kegiatan penelitian/pengkajian. Oleh karena itu dipandang perlu untuk membuat buku panduan tentang perawatan dan penggunaan hewan coba dalam penelitian/pengkajian yang mengacu kepada *Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook* (OLAW, 2002) dan *Guide for the care and use of laboratory animals* (ILAR, 1996).

C. Tujuan

Panduan Perawatan dan Penggunaan Hewan Coba Rodensia (mencit, tikus, kelinci dan marmot) ini dibuat dengan tujuan sebagai pedoman bagi para peneliti yang menggunakan hewan coba khususnya rodensia sebagai objek dalam penelitian/pengkajian sesuai dengan panduan kesrawan yaitu memenuhi kaidah 3R dan 5F.

II. HEWAN MODEL RODENSIA

Rodensia seperti mencit dan tikus banyak digunakan sebagai hewan model dalam penelitian, karena sangat cocok untuk penelitian penyakit pada manusia yang memiliki kesamaan organisasi DNA dan ekspresi gen. Menurut Sinoussi & Montaqutelli (2015), gen manusia memiliki gen yang sebanding dengan gen mencit lebih dari 95%. Tikus juga memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem syaraf, penyakit (kanker, diabetes), dan bahkan kecemasan. Melalui penelitian manipulasi gen tikus dapat dipakai untuk pengembangan pengobatan penyakit, membantu memahami fisiologis dan penyebab penyakit pada manusia.

Strains tikus telah banyak digunakan sebagai hewan model penyakit dan sudah cukup lama digunakan sebelum ada proyek genom dan transgenik tikus. Ada sejumlah besar *strains* tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) yang tersedia, dan dalam sejarah pemuliaan menunjukkan bahwa *strains* tikus laboratorium merupakan *strains* tunggal yang isogenik dan hal ini sangat penting karena dapat mengurangi variasi alami di antara spesies.

Rodensia lainnya seperti kelinci dan marmot juga banyak dipakai sebagai objek penelitian. Kelinci termasuk keluarga Leporidae dari ordo Lagomorpha (Pearce *et al.*, 2007) sedangkan marmot (*Cavia porcellus*), famili Caviidae dan genus *Cavia*. Beberapa alasan mengapa kelinci dan marmot banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah selain karena pertimbangan praktis, kedua hewan model tersebut sangat jinak dan lembut, juga mudah untuk ditangani perawatan yang relatif murah serta dapat berkembang biak secara cepat.

A. Mencit

Strains mencit yang banyak digunakan saat ini dan yang berkembang adalah dari galur *Mus musculus domesticus*, *M.m. musculus* serta *M.m. molossius* dan turunan dari masing-masing *substrains* tersebut (Green, 1966). Mencit biasanya tidak agresif sehingga mudah ditangani, namun dapat juga menggigit jika mengalami ketakutan. Beberapa *strains* mencit ada yang agresif dan dapat menimbulkan gigitan yang menyakitkan.

1. Karakteristik Mencit

Mencit memiliki pendengaran dan penciuman yang sangat berkembang. Secara visual, sensitivitas mencit terhadap spektrum warna merah sangat kurang namun mencit dapat membedakan warna pada kedua ujung spektrum. Jangkauan visual mencit sekitar 30 cm sehingga untuk eksplorasi lingkungan dibantu dengan penggunaan *vibrissae*. Jangkauan pendengaran mencit sebagian besar terletak antara 10-70 kHz, dengan pendengaran paling sensitif terjadi di kisaran ultrasonik sekitar 16 kHz.

Mencit bernapas dengan hidung dengan frekuensi lebih cepat dibandingkan dengan mamalia lainnya karena memiliki pernapasan dengan tingkat metabolik yang tinggi. Tingkat respirasi mencit yang cepat berpotensi mudah terkontaminasi partikulat dan limbah gas di lingkungannya dibandingkan dengan spesies hewan laboratorium lainnya.

Mata mencit sangat besar untuk ukuran tubuh mencit yang kecil, dengan pola aktivitas *nocturnal* serta memiliki banyak batang retina, sehingga penglihatan pada malam hari lebih baik. Mencit memiliki penglihatan dwiwarna, mirip dengan buta warna merah-hijau pada manusia dan memiliki

mekanisme retina yang sangat sensitif terhadap cahaya ultraviolet. Mencit menunjukkan reaksi terkejut jika secara tiba-tiba ditempatkan sesuatu di depannya. Mencit juga mampu melihat benda-benda yang berada di atasnya karena kemampuan tersebut sangat penting untuk menghindar dari pemangsanya.

Mencit merupakan hewan yang hidupnya berkelompok di mana pejantan sangat dominan. Semua mencit sangat teritorial, baik mencit jantan maupun betinanya menunjukkan perilaku agonistik, seperti mengejar, menggigit, dan menjepit ketika diperkenalkan dengan mencit dewasa baru yang belum dikenalnya. Untuk menurunkan dominasi mencit jantan dapat dilakukan kastrasi. Mencit menggunakan kaki untuk bergerak, berjalan, melompat, dan memanjat. Mencit yang merasa aman di lingkungannya, berjalan dengan ekor dijulurkan ke belakang, sedangkan jika tertekan atau takut maka mencit merapatkan diri ke lantai kandang dan menyeret ekornya.

Induk mencit yang sedang bunting akan membangun sarang untuk persiapan kelahiran. Sarang merupakan komponen yang sangat penting untuk perawatan anak mencit baru lahir yang belum mampu bergerak sendiri (*altricial*) dan dengan suhu tubuh internal yang bervariasi (*poikilotherm*) sehingga harus dilindungi dari suhu ekstrem. Mencit mudah menampilkan berbagai perilaku abnormal pada lingkungan suboptimal, termasuk mengunyah rambut (*barbering*), *stereotype* seperti berputar berulang-ulang atau jungkir balik dan jika melihat hewan lainnya perilaku agonistik dan menggigit akan meningkat. Mencit juga dapat melukai diri sendiri (*autotomy*) jika mempunyai luka terbuka atau mengalami nyeri neuropatik kronis dan kanibalisme di antara mencit yang hidup jika ada hewan yang mati dalam kandang.

2. Sistem Pemeliharaan

Mencit perlu dipelihara dalam kelompok karena bersifat sosial. Namun demikian mencit jantan akan berkelahi jika ditempatkan secara berkelompok yang berakibat timbulnya luka yang serius, sehingga untuk menghindarinya maka mencit jantan harus ditempatkan berpasangan dalam kelompok kecil atau dilakukan kastrasi sebelum masa kematangan seksual atau dapat pula disediakan partisi visual dalam kandang untuk bersembunyi dari interaksi agonistik. Meskipun mencit jantan secara umum sebaiknya ditempatkan secara individual, namun lebih tepat jika mencit ditempatkan dalam kandang sosial (Van Loo *et al.*, 2004).

Penempatan mencit jantan dan betina dalam kelompok menyebabkan tingkat istirahat rata-rata mencit lebih rendah daripada mencit yang ditempatkan secara individual. Hal ini menunjukkan bahwa hewan dalam kelompok mengalami fisiologis yang positif sebagai akibat dari lingkungan sosial (Spani *et al.* 2003). Ukuran optimal untuk penempatan kelompok mencit dewasa terdiri dari 3-5 ekor mencit betina dan 3 ekor pejantan per kelompok. Mencit jantan cenderung lebih sosial dan toleran terhadap pejantan lain ketika dikelompokkan sebelum kematangan seksual. Selama mencit jantan dikandangkan dalam struktur dan ruangan yang memadai seperti tersedia terowongan, rak, atau partisi ruang untuk bersembunyi dari mencit sejenis, indeks fisiologis stres akan berkurang dalam kondisi berpasangan atau kelompok dibandingkan dengan kondisi individual.

a. Kandang mencit

Fasilitas ruangan kandang untuk mencit harus memenuhi kebutuhan fisiologis dasar dan perilaku termasuk makan,

minum, buang air kecil, buang air besar, akses hijauan, eksplorasi, menggerogoti, sembunyi, memanjat, bermain, menggali sarang dalam berbagai kegiatan sosial. Luas minimal lantai kandang mencit individual adalah 250 cm², sedangkan untuk 2 ekor mencit luas lantai minimal adalah 500 cm² dengan tambahan luas lantai minimal 60 cm² per tambahan satu ekor mencit dewasa dalam kelompok yang lebih besar. Ketinggian kandang harus memungkinkan mencit untuk berdiri di atas kaki belakangnya, meregangkan badan sepenuhnya, dan memanjat pada bar tutup kandang.

Bedding harus disediakan di kandang mencit dan tersedia dengan kuantitas cukup untuk dapat menutupi seluruh lantai kandang. Ketinggian *bedding* yang diperlukan bervariasi, idealnya mencit dapat menggali atau bersembunyi di bawah *bedding*. Sebagai panduan, ketinggian minimalnya adalah 2 cm.

Kelembapan relatif lingkungan di kandang mencit dewasa yang direkomendasikan berkisar 55±15% (40-70%), dengan temperatur udara kandang harus dipertahankan pada suhu 22°C dan ventilasi udara 15 ACH (*air change per hour*) untuk meminimalkan konsentrasi kadar amonia. Kadar amonia dalam kandang harus dijaga pada kondisi 25 ppm atau lebih rendah.

Kandang mencit harus ditangani dan dikelola untuk meminimalkan kerusakan dan kandang tidak boleh ditumpuk lebih dari 15 kandang. Kandang mencit dan peralatan kandang yang terbuat dari plastik seperti botol minum harus dicuci dengan air panas suu sekitar 60-66°C dengan menggunakan deterjen atau bahan lain sesuai dengan rekomendasi dari produsen.

b. Pemberian pakan dan minum

Mencit adalah binatang *nocturnal* dan pemakan segala (omnivora), sehingga makan dan minum atau perkawinan dilakukan pada malam hari. Mencit pada malam hari melakukan *photoperiodism* dan cenderung mengonsumsi sebagian besar pakan, meskipun sebagian kecil makanan juga dimakan sepanjang hari.

Kebutuhan nutrisi mencit adalah protein (20-25%), karbohidrat (45-60%), lemak (5-15%), serat kasar (2,5%) (AFRMA 2016). Kebutuhan pakan per hari mencit sebanyak 3-5 gram/ekor/hari (pertumbuhan), 5-7 gram/ekor/hari (dewasa), 6-8 gram/ekor/hari (bunting) dan 7-15 gram/ekor/hari (menyusui) (Curfs *et al.*, 2011).

Pengurangan konsumsi pakan dan penurunan berat badan terjadi secara signifikan ketika mencit tidak memiliki akses ke air minum. Mencit tidak dapat muntah namun regurgitasi pasif dapat terjadi jika perut overdistensi. Mencit memilih pakan terkait dengan diet selama menyusui dan membutuhkan masa transisi ketika diperkenalkan pada pakan baru. Memncit lebih menyukai pakan yang mengandung sereal atau biji-bijian.

Sebagai hewan penggerat, gigi seri mencit terus berkembang sehingga memerlukan objek di lingkungan untuk dikunyah sebagai upaya mencegah maloklusi. Mencit secara alami koprafagia (memakan feses sendiri) dan memperoleh beberapa manfaat gizi dari proses ini. Banyak *strains* mencit memiliki kecenderungan poligenik untuk menjadi obesitas. Mencit yang dibatasi konsumsi pakannya hingga 40% menunjukkan peningkatan umur dan penurunan kejadian tumor. Mencit tidak memodulasi asupan kalori dengan baik dan sering menjadi gemuk saat pakan diberikan secara *ad libitum*, yang mengakibatkan kerentanan yang ditandai dengan penyakit

degeneratif ginjal kronis dan berbagai tumor serta penurunan kesuburan dan umur mencit (Fernandez *et al.*, 2011; Keenan *et al.*, 1995). Pertumbuhan mencit berjalan secara perlahan sepanjang hidupnya dan bobot mencit jantan dapat mencapai satu kilogram.

Kebutuhan air minum mencit adalah (sekitar 5-8 ml/ekor/hari) sedangkan kebutuhan berat pakan kering sekitar 48 gram/ekor/hari. Pakan dan asupan air minum dipengaruhi oleh kondisi suhu lingkungan. Misal kenaikan suhu udara 29-33°C membuat asupan pakan mencit berkurang secara nyata. Mencit juga harus mendapatkan akses air minum *ad libitum*, dan air minum tidak boleh tercemar mikroorganisme. Untuk itu harus dilakukan perlakuan pada air terlebih dahulu guna mengurangi tingkat kontaminasi mikroba. Seperti halnya spesies *nocturnal* lainnya, hingga 85% konsumsi makanan dan air minum pada mencit terjadi dalam beberapa jam pada fase gelap, meskipun makanan kecil dapat dimakan sepanjang hari (Zucker, 1971).

Mencit secara alami adalah *neophobic* (waspada terhadap objek baru dan makanan). Mencit lebih menyukai lingkungan yang stabil, sehingga pemberian pakan baru yang diperkenalkan mengakibatkan konsumsi dalam jumlah kecil. Mencit juga memiliki rasa dan persepsi terhadap pakan sama seperti halnya manusia serta cenderung memilih makanan manis dan berlemak jika diberikan pilihan diet (Prats *et al.*, 1989).

c. Pemberian nomor identitas mencit

Identifikasi mencit secara individual harus menggunakan metode noninvasif yang paling kompatibel dengan mencit. Pewarna nontoksik dan spidol permanen dapat digunakan pada bulu dan ekor namun identifikasi perlu diganti setiap 2-10

hari. Ekor mencit perlu dibersihkan dengan isopropil alkohol 70% sebelum diberi tanda agar identifikasinya lebih awet. Identifikasi secara subkutan *microchip*, *tattoo* dan takik telinga dapat digunakan untuk identifikasi hewan secara permanen, namun karena menimbulkan rasa sakit sehingga perlu diberikan anestesi, sedasi atau analgesia.

d. Karantina dan aklimatisasi

Mencit yang baru datang dan akan digunakan dalam penelitian, perlu dilakukan karantina dan aklimatisasi terlebih dahulu, untuk mengurangi stres selama transportasi (Obernier & Baldwin, 2006). Apabila mencit tersebut diperoleh dari penyedia yang telah diakui profil kesehatan hewannya, maka tidak diperlukan tindakan karantina namun tetap diperlukan aklimatisasi (penyesuaian dengan kondisi sekitar) selama 72 jam. Selama tindakan karantina dan aklimatisasi dilakukan observasi kesehatan dan fisiologis tubuh serta adaptasi dengan pemelihara yang baru.

Apabila tidak dilakukan periode aklimatisasi akan berpengaruh terhadap hormon reproduksi, fungsi fisiologi (aktivitas, denyut jantung, temperatur, respirasi), imunologi, dan peningkatan level *corticosteroid* (Jeniffer *et al.*, 2007).

e. Penanganan dan pengendalian mencit

Mencit umumnya mudah ditangani dan dikendalikan, namun demikian ukuran tubuhnya yang kecil rentan terhadap cedera fisik jika jatuh karena beberapa mencit sangat aktif dan bahkan dapat melompat. Teknik untuk mengangkat mencit dilakukan dengan memegang bagian ekor pada sepertiga proksimal, selanjutnya ditempatkan pada permukaan yang kasar seperti permukaan kandang, dan kemudian tengkuk mencit dipegang

di antara ibu jari dan jari telunjuk, sementara ekor tetap dipegang (Gambar 1).



Foto Koleksi KKHB, fotografer April HW (2016)

Gambar 1. Cara mengangkat dan memegang mencit

Teknik memindahkan mencit secara cepat, misalnya melakukan transfer mencit ke kandang baru dapat menggunakan *forceps* dengan cara mengangkat bagian ekor atau dengan memegang kulit yang longgar di bagian belakang secara lembut, dan kemudian dengan cepat ditransfer ke kandang baru. Sarung tangan atau *forcep* harus dibersihkan dengan disinfektan seperti *vircon* setiap kali memindahkan mencit dari kelompok lainnya.

3. Koleksi Darah

Koleksi darah pada mencit dapat dilakukan melalui anestesi dan nonanestesi. Koleksi darah melalui anestesi antara lain dari vena ekor, insisi ekor, *sinus orbitalis*, *vena jugularis*, dan kanulasi. Sedangkan koleksi darah nonanestesi dapat dilakukan melalui *vena saphena* dan vena pada kaki. Pengambilan darah pada mencit yang diterminasi dilakukan melalui *cardiac puncture* (pungsi jantung), *vena retro orbitalis*, dan *vena cava posterior*.

Jumlah maksimal volume darah yang dapat koleksi pada hewan laboratorium yang disarankan adalah 1,5% dari total berat tubuh hewan dan kemudian tidak boleh dilakukan lagi selama 2 minggu untuk memungkinkan konstituen darah kembali normal. Jika koleksi darah perlu dilakukan interval mingguan, maka banyaknya volume darah yang dapat dikoleksi secara aman adalah 0,5% dari berat badan.

Rata-rata mencit memiliki volume darah sekitar 58,5 ml/kg berat badan. Misal mencit dengan berat badan 25 gram akan memiliki total volume darah sekitar $58,5 \text{ ml/kg} \times 0,025 \text{ kg} = 1,46 \text{ ml}$. Volume darah yang dapat diambil pada sekali pengambilan adalah <10% total volume darah. Pada pengulangan pengambilan darah dalam waktu interval yang pendek disarankan <1% total volume darah dalam waktu 24 jam dan disarankan menggunakan kanulasi (NC3Rs).

Penetapan prosedur pengambilan darah yang akan dipilih tergantung pada volume darah yang dibutuhkan. Pengambilan darah dengan volume darah <0,2 ml dapat dilakukan dalam keadaan hewan teranestesi, tetapi bila >0,2 ml dilakukan melalui anestesi umum yang sifatnya *non-recovery* (terminasi). Beberapa prosedur di bawah ini adalah metode pengambilan darah yang dapat dilakukan pada mencit (Wolforth, 2000; Parasuraman *et al.*, 2010; NC3Rs).

a. Prosedur untuk koleksi darah melalui *vena saphena*:

- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung koleksi darah, dan jarum 20G.
- Bagian kaki belakang hewan dicukur sampai terlihat *vena saphena*.
- Hewan di-restrain secara manual.
- Sekitar *vena saphena* diusap alkohol 70%.
- *Vena saphena* ditusuk menggunakan jarum 20G.

b. Prosedur untuk koleksi darah melalui vena telapak kaki:

- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung kapiler untuk koleksi darah dan jarum 23/27G.
- Bagian kaki belakang dicukur sampai terlihat vena telapak kaki.
- Hewan di-restrain secara manual.
- Sekitar vena telapak kaki diusap alkohol 70%.
- Vena telapak kaki ditusuk menggunakan jarum 20/27G.
- Darah dikoleksi menggunakan tabung kapiler.

c. Prosedur untuk koleksi darah melalui vena ekor:

- Metode ini digunakan untuk koleksi darah dalam jumlah besar (2 ml/pengambilan).
- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung kapiler untuk koleksi darah dan jarum 23G.
- Mencit diletakkan dalam ruang penghangat (*warming chamber*).
- Sekitar vena ekor diusap alkohol 70%.
- Cream anestesi lokal dioleskan pada permukaan ekor 30 menit sebelum pengambilan darah.
- Vena ekor ditusuk menggunakan jarum 23G.

- Darah dikoleksi menggunakan tabung kapiler/*syringe*.
- d. Prosedur untuk koleksi darah melalui pemotongan ekor:
- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung kapiler/pipet pastur, *scalpel* steril, anestesi lokal.
 - Sebelum pemotongan ekor sebaiknya dilakukan pemberian anestesi lokal.
 - Panjang maksimal pemotongan ekor adalah 1 mm dari ujung ekor dan selama penelitian hanya boleh dilakukan 5 kali pemotongan (5×1 mm).
- e. Prosedur untuk koleksi darah melalui vena retro orbital:
- Siapkan sarung tangan, tabung kapiler/pipet pastur, dan anestesi.
 - Pengambilan darah dengan metode ini hanya dilakukan pada hewan yang akan diterminasi dan harus dilakukan pada kondisi teranestesi.
 - Mencit *di-restrain* dengan memegang bagian leher secara hati-hati sehingga matanya menonjol dan harus dilakukan oleh orang yang kompeten.
 - Pipa kapiler ditusukkan ke dalam vena sinus dengan posisi kemiringan 30 derajat dan biarkan darah mengalir secara kapiler.
 - Maksimal volume darah yang dapat dikoleksi sebanyak 0,5 ml.
- f. Prosedur untuk koleksi darah melalui *vena jugularis*:
- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung untuk koleksi darah, dan jarum 25G.

- Metode ini harus dilakukan dengan anestesi umum atau inhalasi dan diperlukan 2 orang untuk pengambilan sampel darah.
- Daerah leher mencit dicukur kemudian diusapkan alkohol 70%, kemudian dilakukan pembendungan *vena jugularis*.
- *Vena jugularis* akan terlihat pada persimpangan *sternoclavicular*.
- Jarum 25G ditusukkan ke *vena jugularis* (maksimal 3-4 mm) dari arah bawah ke atas (*caudocephalic*) dan kemudian darah ditarik pelan-pelan.

g. Prosedur untuk koleksi darah melalui *cardiac puncture*:

- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung untuk koleksi darah, jarum 19-25G, dan *syringe* 1-5 ml.
- Pungsi jantung cocok untuk pengambilan darah dari mencit yang dianestesi atau terminasi.
- Sampel darah sebaiknya diambil dari ventrikel yang dapat diakses melalui sisi kiri dada, melalui diafragma, dari atas tulang dada atau dengan melakukan *thoracotomy*.
- Darah diambil secara perlahan agar jantung tidak kolaps.
- Metode ini dilakukan untuk keperluan pengambilan darah aseptis.

h. Prosedur untuk koleksi darah melalui *vena cava posterior*:

- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung untuk koleksi darah, jarum 21-25G, *syringe* 1-5 ml, dan peralatan bedah.
- Metode ini cocok untuk pengambilan darah dari mencit yang dianestesi atau terminasi.
- Setelah hewan dianestesi, bagian perut disayat berbentuk huruf Y atau V untuk mempermudah pengeluaran usus.

- Setelah usus dikeluarkan, hati didorong ke arah depan, posisi *vena cava posterior* akan terlihat di antara ginjal.
 - Darah dikoleksi dengan cara menusukkan jarum ke arah *vena cava posterior*.
 - Metode ini dilakukan untuk keperluan pengambilan darah aseptis.
 - Darah diambil secara perlahan agar dinding pembuluh tidak kolaps.
 - Metode ini bisa dilakukan berulang 3-4 kali hingga darah habis.
- i. Prosedur untuk koleksi darah melalui *vena submandibular* atau vena wajah

Koleksi darah dari vena submandibularis merupakan teknik yang aman dan cepat, namun tidak disarankan untuk pengambilan darah yang berulang. Pengulangan pengambilan darah dimungkinkan bergantian pada sisi wajah lainnya. Metode ini, harus dilakukan secara hati-hati dan disarankan tidak mengambil darah terlalu banyak serta dilakukan oleh orang yang kompeten atau terlatih.

- Mencit dianestesi sebelum dilakukan pengambilan darah.
- Mencit dipegang di bagian kulit tengkuk yang longgar di belakang telinga sehingga kulit di atas mandibula menjadi terfiksir.
- Jarum ukuran 25G ditusukkan ke dalam vena sekitar 1-2 mm di belakang mandibula di depan liang telinga.
- Darah yang keluar dikoleksi dengan tabung hematokrit.
- Setelah selesai tekan vena dengan lembut menggunakan kapas/kasa hingga darah berhenti.
- Sebanyak 200 μl darah dapat diperoleh dengan mudah dari mencit dewasa yang sehat.

4. Administrasi Cairan atau Obat

Rute administrasi cairan atau obat pada mencit tergantung pada tujuan penelitian, pirogenisitas, dan toksisitas substansi yang diadministrasikan. Aplikasi dapat melalui injeksi IP, SC, IM, IV atau IG, namun harus mempertimbangkan pH cairan (berkisar 4,5-8), viskositas (misal, minyak dan cairan kental tidak dapat diaplikasikan melalui IV), konsentrasi ($<0,15$ molar), dan sterilitas (dapat dicek dengan memakai filter ukuran $0,22\text{ }\mu\text{m}$). Selama aplikasi cairan/obat, rasa sakit dan penderitaan yang ditimbulkan pada mencit harus diminimalkan. Setiap melakukan injeksi pada mencit perlu digunakan jarum suntik baru dan steril, serta selalu menyuntikkan dengan *bevel* jarum menghadap ke atas.

Sebelum melakukan injeksi obat/cairan, maka sebaiknya area sekitar injeksi harus dioleskan dengan air hangat atau alkohol 70%. Tipe administrasi, ukuran jarum dan volume cairan yang direkomendasikan pada mencit seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Tipe Administrasi, Ukuran Jarum dan Volume Cairan yang Direkomendasikan pada Mencit

Tipe administrasi	Ukuran jarum	Volume cairan
<i>Intraperitoneal</i> (IP)	25-27G	$<10\text{ ml/kg}$ berat badan
Subkutan (SC)	25G	2-3 ml daerah tengkuk 0,2 ml daerah <i>inguinal</i>
Intramuskuler (IM)	27G	50-100 μl per area, pada otot <i>quadricep</i>
Intravena (IV)	26-28G	200 μl , vena lateral ekor, <i>vena jugularis</i> eksternal dan <i>metatarsal</i>
<i>Intragastric</i> (IG)	$<22\text{G, balltip}$	0,2 ml/aplikasi

Teknik injeksi untuk memasukkan cairan obat ke tubuh mencit dapat dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut (Shimizu, 2004):

a. *Intraperitoneal*

Injeksi *intraperitoneal* paling umum dipakai karena prosedurnya sederhana dan mudah. Cairan yang dimasukkan harus *isotonic*. Posisi jarum dan *syringe* harus paralel dengan tulang punggung untuk mencegah penetrasi ke organ dalam. Injeksi ini dapat dilakukan pada bagian kuadran posterior abdomen (Gambar 2). Mencit dipegang pada bagian punggungnya, jarum diinjeksikan masuk ke area *inguinal* dengan sudut 10° antara jarum dengan permukaan abdomen. Hindari melakukan injeksi pada garis tengah untuk mencegah penetrasi ke dalam kandung kemih.



Foto Koleksi KKHB, fotografer April HW (2016)

Gambar 2. Teknik injeksi *intraperitoneal* pada mencit

b. Subkutan

Injeksi subkutan dapat dilakukan pada bagian tenguk leher atau di area kulit yang longgar sepanjang punggung mencit

atau area *inguinal* (Gambar 3). Perlu kehati-hatian dalam mengarahkan jarum ke tengkuk agar tidak mengenai jari petugas. Injeksi subkutan dilakukan di bawah kulit di daerah *intra scapular* dengan volume yang direkomendasikan <3 ml. Sedangkan untuk injeksi subkutan daerah *inguinal* volume yang direkomendasikan <2 ml per lokasi dan hindari daerah *linea alba*.

Injeksi subkutan dilakukan dengan sudut 45° pada kulit yang sedikit diangkat. Namun, jika menggunakan jarum insulin yang lebih pendek (5, 6, atau 8 mm), direkomendasikan sudut suntikan 90°.



Foto Koleksi KKHB, fotografer April HW (2016)

Gambar 3. Teknik injeksi subkutan pada mencit

c. Intramuskuler

Injeksi intramuskuler hanya digunakan jika suntikan dengan teknik lain tidak memungkinkan, sebab teknik tersebut sangat menyakitkan. Ujung jarum dimasukkan melalui kulit ke dalam otot paha dan harus dijauhkan dari tulang paha dan saraf *sciatic*. Selanjutnya *syringe plunger* ditarik (aspirasi) sebelum cairan/obat

diinjeksikan untuk memastikan tidak terbawanya darah atau cairan tubuh. Karena massa otot mencit begitu kecil, prinsip kehati-hatian harus dilakukan untuk injeksi, yakni menggunakan jarum ukuran kecil dengan volume kecil. Suntikan intramuskuler dapat pula dilakukan pada otot paha depan di bagian anterior (Gambar 4). Suntikan intramuskuler harus dilakukan dengan sudut 90° untuk memastikan jarum mencapai otot, dan mengurangi rasa sakit.



Foto Koleksi KKHB, fotografer April HW (2016)

Gambar 4. Injeksi intramuskuler pada mencit

d. Intravena

Injeksi intravena pada mencit mempunyai kelebihan dibandingkan dengan rute injeksi lainnya karena cairan dengan konsentrasi tinggi, pH tinggi/rendah, dan cairan yang menyebabkan iritasi dapat lebih mudah diadministrasikan. Pembuluh darah mencit dilebarkan dengan cara menghangatkan badan mencit terlebih dahulu misalnya dengan membungkus mencit menggunakan handuk atau *warming chamber*, sebelum dimasukkan dalam *restrainer*. Metode lain untuk melebarkan

pembuluh darah yaitu dengan cara mengoleskan alkohol pada bagian ekor mencit. Jarum dimasukkan pada pembuluh darah dengan sudut kemiringan 20-40° dengan rekomendasi volume <0,2 ml. Jika posisi jarum injeksi benar maka vena akan terlihat jelas pada tempat suntikan di pangkal ekor, sedangkan jika posisi jarum tidak benar maka akan menggelembung di sekitar tempat suntikan (Gambar 5).



Foto Koleksi KKHB, fotografer April HW (2016)

Gambar 5. Injeksi intravena pada pangkal ekor mencit

e. *Intragastric*

Administrasi *intragastric* (*oral gavage*) dipilih untuk memasukkan campuran cairan menggunakan jarum dengan ujung tumpul (*balltip*) untuk mencegah terlukanya esofagus dan mencegah cairan masuk ke dalam trachea. Pemberian *intragastric* pada mencit dilakukan secara manual dengan memegang kulit bagian tengkuk dan posisi leher mencit ditegakkan. Kemudian *syringe* dengan jarum ukuran 22G *balltip* dimasukkan melalui mulut dan *pharynx* langsung ke esofagus. Mencit biasanya langsung menelan jarum yang mendekati *pharynx*. Cairan dimasukkan ke dalam esofagus secara

perlahan-lahan. Jika jarum salah masuk, maka mencit akan batuk/tersedak dan cairan akan keluar dari hidung. Jika cairan masuk ke dalam paru-paru, maka mencit akan segera dieutanasia (*humane endpoint*).

5. Anestesi

Anatomi dan fisiologis mencit yang spesifik memengaruhi efek dari anestesi yang diberikan. Ukuran tubuh mencit yang kecil membuat metabolisme dan ekskresi obat sangat cepat, karena itu waktu paruh obat suntik dan durasi anestesi merupakan faktor yang penting pada mencit dibandingkan dengan spesies yang lebih besar lainnya. Selain itu, elevasi luas permukaan tubuh memudahkan mencit kehilangan panas dan hipotermia. Tingkat konsumsi oksigen mencit yang tinggi mengurangi tingkat kelangsungan hidup akibat hipoksemia. Kerusakan sistem saraf pusat terjadi hanya dalam beberapa detik setelah terjadi gangguan pernapasan pada mencit (Abou-Madi, 2006).

Faktor utama yang perlu dipertimbangkan dalam memilih teknik anestesi pada mencit adalah *strains*, umur, berat badan, model penyakit dan jenis prosedur eksperimental yang digunakan. Jenis kelamin mencit memengaruhi farmakokinetik dan metabolisme anestesi karena adanya perbedaan kortikosteroid dalam plasma, hormon seksual, atau enzim hati (Hildebrandt *et al.*, 2008). Sebagai contoh, dosis ketamin untuk mencit betina yang dibutuhkan lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan.

Perawatan pra-anestesi dan pemilihan teknik yang cocok pada mencit dapat mengurangi insiden komplikasi yang dapat terjadi dalam pemberian anestesi. Mencit tidak perlu dipuasakan sebelum anestesi diberikan karena mencit tidak mempunyai

refleks muntah. Puasa yang berkepanjangan dapat menyebabkan hipoglikemia karena cadangan glikogen hati mencit rendah (Rao & Verkman, 2000).

Pra-anestesi *tranquilizer* dan analgesika dapat diberikan pada mencit untuk mengurangi ketakutan, dan stres serta mempercepat fase pemulihan, mengurangi dosis dan efek samping dari agen anestesi. Dianjurkan untuk meminimalkan stres yang disebabkan oleh pemberian *multiple* suntikan pada saat pemberian anestesi. Pemberian atropin (0,04 mg/kg SC, IP, atau IM) direkomendasikan pada mencit sebelum induksi anestesi untuk mengurangi sekresi bronkial dan saliva serta melindungi jantung dari penyumbatan (Flecknell, 1989). Atropin dapat dicampur dengan agen yang mudah larut dalam air lainnya serta diberikan 10 menit sebelum induksi intramuskuler.

Anestesi pada mencit dilakukan secara injeksi atau inhalasi, tergantung dari sifat obat yang diberikan. Induksi anestesi umum pada mencit dapat dicapai dengan berbagai jenis obat dan teknik (Flecknell, 1989). Agen anestesi yang paling umum digunakan pada mencit adalah injeksi *avertin*, *pentobarbital*, dan ketamin, yang sering dikombinasikan dengan agen lainnya seperti *acepromazin*, *xylazin*, *diazepam*, beberapa analgesia narkotika, dan agen inhalasi *halotan*, *isofluran*, dan *sevofluran*.

Anestesi inhalasi pada umumnya lebih aman jika dibandingkan dengan teknik anestesi lainnya terutama untuk prosedur pembedahan yang berkepanjangan, di mana depresi kardiovaskular menjadi lebih rendah sehingga mengurangi dampak gangguan fungsi hati dan ginjal, serta fase pemulihan yang cepat dan mudah dalam pemeliharaan kedalaman anestesi. Namun demikian, agen inhalan dapat menyebabkan depresi pernapasan dan miokardium, vasodilatasi, dan hipotensi (Paddleford, 2000) serta efek analgesik lebih lemah dibandingkan

dengan agen anestesi injeksi. Teknik anestesi inhalasi yang modern memerlukan peralatan yang kompleks dan mahal seperti alat penguap yang presisi dan *flowmeters*, sistem pernapasan khusus, dan sistem pembilasan untuk mencegah polusi.

a. Anestesi injeksi

Anestesi injeksi pada mencit dapat diberikan melalui rute *intra peritoneal* (IP), intramuskuler (IM) atau intravena (IV). Rute subkutan (SC) tidak dapat diprediksi untuk induksi anestesi karena tingkat penyerapan yang lambat. Volume injeksi harus dipertimbangkan dengan cermat sesuai dengan ketersediaan obat. Volume obat yang memadai untuk rute IP berkisar 0,1-1 ml, rute IV 0,05-0,2 ml dan rute IM tidak melebihi 0,05 ml pada mencit dewasa (Flecknell, 1989). Dosis berbagai anestesi pada mencit tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rekomendasi Dosis Berbagai Agen Anestesi pada Mencit

Agen anestesi	Dosis	Keterangan	Referensi
Pentobarbital	50-90 mg/kg IP	Depresi <i>cardio</i> <i>respiratori</i> , hipotensi; Durasi anestesi panjang	Flecknell (1989), Kohn <i>et al.</i> (1997), Hildebrand <i>et al.</i> (2008)
Thiopental	30-40 mg/kg IP	Depresi <i>cardio</i> <i>respiratori</i> , hipotensi; Durasi pendek	Flecknell (1989), Hildebrand <i>et al.</i> (2008)
Tribromoethanol	240 mg/kg IP	Peritonitis, intestinalileus, perlengketan; Kematian (pemberian dosis kedua)	Zeller <i>et al.</i> (1997) Flecknell (1989) Arras <i>et al.</i> (2001) Meyer & Fish (2005)
Ketamine	80-100 mg/kg IP	Sedatif	Xu <i>et al.</i> (2007)
Tiletamine +	40-80 mg/kg IP	Sedatif	Flecknell (1989)

Agen anestesi	Dosis	Keterangan	Referensi
<i>zolazepam</i>			
<i>Ketamine + xylazine</i>	100/10 mg/kg IP 65/4 mg/kg IP 100/5 mg/kg IP 100/1.25 mg/kg IP	α_2 agonist reversible dengan atipamezole 1mg/kg IP Untuk durasi anestesi panjang Dosis ketamin yang diperlukan $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$	Flecknell (1989) Buitrago <i>et al.</i> (2008) Chari <i>et al.</i> (2001) Roth <i>et al.</i> (2001) Janseen <i>et al.</i> (2004) Schaefer <i>et al.</i> (2005)
<i>Ketamine + medetomidine</i>	75/1 mg/kg IP Betina 75/1 mg/kg Jantan 50/1mg/kg	α_2 agonist reversible dengan atipamezole 1mg/kg IP Depresi respirasi moderat	Voipio <i>et al.</i> (1988) Flecknell (1989) Taylor <i>et al.</i> (2000) Cruz <i>et al.</i> (1998)
<i>S-Ketamine + medetomidine</i>	75 mg/kg + 0,25	α_2 agonist reversible dengan atipamezole 1mg/kg IP	Kilic & Henke (2004)
<i>Racemic ketamine + medetomidine</i>	mg/kg 50 mg/kg + 0,25 mg/kg	Durasi pendek dan fase pemulihan lebih cepat dibandingkan Racemic ketamin	

b. Anestesi inhalasi

Anestesi inhalasi lebih aman dan fase pemulihannya lebih cepat dibandingkan dengan anestesi injeksi. Penyerapan dan eliminasi anestesi inhalasi terjadi melalui paru-paru sehingga memungkinkan induksi dan pemulihan lebih cepat. Mesin anestesi inhalasi terdiri dari sumber oksigen, *flowmeter*, presisi *vaporizer*, sirkuit pernapasan, dan sistem pembilasan. Pada hewan kecil, anestesi inhalasi dapat diinduksi dengan mudah dengan menempatkan hewan di "ruang induksi/chamber" dan mempertahankan kedalaman yang diinginkan dengan masker

wajah. Dosis anestesi inhalasi yang direkomendasikan untuk mencit tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Dosis Anestesi Inhalasi yang Direkomendasikan untuk Mencit

Agen anestesi	MAC %	Konsentrasi induksi (%)	Konsentrasi pemeliharaan (%)
<i>Halothane</i>	0,95	4-5% + 0,8-1 l/menit	1-2% + 0,8-1 l/menit
<i>Isoflurane</i>	1,38	4-5% + 0,8-1 l/menit	1-3% + 0,8-1 l/menit
<i>Sevoflurane</i>		Tergantung respons mencit +0,8-1 l/menit	Tergantung respons mencit + 0,8-1 l/menit

MAC (*minimum alveolar concentration*)

Kondisi lingkungan yang hangat, kering, dan tenang dengan suasana penambahan oksigen dianjurkan untuk mengurangi efek menggil dan hipoksemia pada mencit selama fase pemulihan. Pemberian terapi cairan larutan dekstrosa/*saline* 0,9% akan mempercepat fase pemulihan anestesi dan mencegah dehidrasi dengan dosis 1,2 ml atau setengahnya dibagi dalam dua dosis harian secara SC atau IP pada mencit dengan berat 20 gram.

6. Analgesia

Analgesia pada mencit diberikan karena terkadang prosedur invasif yang diberikan sedikit menyakitkan seperti prosedur *intracavitory* atau injeksi intravaskuler, kateterisasi pembuluh darah, atau penetrasi *endocavitory*. Pada kondisi ini, perlu diberikan analgesia yang memadai untuk mengurangi rasa sakit pascaoperasi akut. Agen analgesia yang direkomendasikan pada mencit dan umumnya berhasil dengan baik tercantum pada Tabel 4.

Opioid biasanya digunakan pada hewan yang memberikan efek nyeri dengan tingkat sedang atau berat. Opioid memiliki

durasi yang relatif singkat pada rodensia kecil karena tingkat metabolismenya lebih cepat dibandingkan dengan spesies yang lebih besar. Oleh karena itu, untuk analgesia pada mencit lebih dipilih buprenorfin yang memiliki durasi panjang.

Tabel 4. Rekomendasi Analgesia pada Mencit

Jenis analgesia	Dosis
<i>Meloxicam</i> (NSAID)*	1 mg/kg SC, PO 30 menit praoperasi dan setiap 24 jam pascaoperasi
<i>Carprofen</i> (NSAID)	5 mg/kg SC PO setiap 24 jam
<i>Ketoprofen</i> (NSAID)	2-5 mg/kg SC setiap 12-24 jam
<i>Buprenorphine</i> (opioid)	0,05-0,1 mg/kg SC setiap12 jam
<i>Tramadole</i> (opioid)	10-30 mg/kg IP atau 1 ml 5% solusion dalam 150 ml air
<i>Lidocaine</i> (anestesi lokal)	1-4 mg/kg atau 0,4 ml/kg 1% solusion

*NSAID: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug

Sebagai alternatif atau tambahan untuk administrasi opioid pada mencit dianjurkan juga penggunaan obat antiinflamasi. Anestesi lokal atau aplikasi *lidocaine* atau krim *prilocaine* secara topikal juga dapat digunakan untuk analgesia mencit pra dan pascaoperasi karena dapat memblokir saraf, sebagai analgesia pusat dan infiltrasi ke bekas operasi (Flecknell, 1989; Flecknell, 1998). Pemberian salep mata *ossibuprocaine* dapat digunakan pada mata mencit yang mendapat perlakuan menyakitkan.

7. Antibiotik

Antibiotik sistemis yang paling aman dan tidak berbahaya bagi populasi simbiosis bakteri usus mencit adalah fluoroquinolon dan kombinasi thrimetroprim-sulfonamid. Pemberian gentamisin (5-10 mg/kg) dapat diberikan secara SC

(Quesenberry & Carpenter, 2004), namun pemberian antibiotik harus ditunda sampai selesai pemulihan dikarenakan hipotensi dan anestesi yang berkepanjangan menghalangi peredaran kalsium dalam darah mencit. Rekomendasi dosis antibiotik untuk mencit seperti tercantum pada Tabel 5.

Tabel 5. Dosis Antibiotik untuk Mencit

Jenis antibiotik	Dosis
<i>Enrofloxacin</i>	5-20 mg/kg tiap 24 jam SC atau 50-200 mg/l dalam air minum
<i>Thrimetropim-sulphonamid</i>	15-30 g/kg PO, SC, IM setiap 12 jam

8. Eutanasia

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik eutanasia pada mencit banyak dilakukan dengan cara dislokasi leher apabila metode eutanasia lain dapat mengganggu tujuan dari proyek penelitian. Eutanasia dislokasi leher dapat dikombinasikan dengan pemberian agen eutanasia secara injeksi atau inhalasi untuk menjamin mencit benar-benar mati. Dislokasi leher pertama kali disetujui untuk eutanasia mencit pada tahun 1972 oleh AVMA (American Veterinary Medical Association). Berdasarkan aturan AVMA untuk eutanasia rodensia termasuk mencit dapat dilakukan dengan berbagai agen seperti pemberian barbiturat overdosis, agen disosiasi (ketamin, silasin, diazepam), injeksi etanol (70-100%), agen inhalasi, dan secara fisik seperti dislokasi leher atau dekapitasi.

Eutanasia dengan pemberian CO₂ dalam *chamber* sering digunakan untuk hewan laboratorium kecil karena cepat, aman, dan mudah diperoleh. Konsentrasi tinggi CO₂ yang diinhali menyebabkan penurunan pH intraseluler secara cepat, penurunan fungsi dalam sistem saraf pusat, dan

kematian. Dosis eutanasia yang dianjurkan untuk injeksi sodium pentobarbital adalah 150 mg/kg. Untuk rodensia yang lebih besar 250 mg/kg atau dengan 3 kali dosis anestesi.

Eutanasia dengan menggunakan ketamin dan agen disosiasi lainnya, dengan kombinasi *xylazine* atau *benzodiazepine* seperti *diazepam* dapat diberikan pada kondisi tertentu. Kombinasi ketamin/*xylazin* dapat diberikan melalui rute *intraperitoneal*, *intravena*, atau *retro-orbital* dengan dosis dan volume bervariasi minimal 4 kali dosis anestesi. Sedangkan eutanasia mencit dengan etanol 70-100% dapat dilakukan secara injeksi *intraperitoneal* untuk mencit dewasa. Metode ini terbukti menghasilkan ketidaksadaran dan kematian dalam waktu kurang dari 7 menit pada mencit dewasa, namun teknik ini tidak dapat diandalkan pada mencit atau tikus dengan umur kurang dari 28 hari.

Agen inhalan seperti *isoflurane*, *sevoflurane*, dan gas halogen lainnya dapat digunakan sebagai sarana untuk eutanasia mencit menggunakan anestesi *vaporizer* atau toples. Anestesi *vaporizers* dapat digunakan untuk secara cepat dan handal pada rodensia untuk menginduksi anestesi kemudian baru dilakukan eutanasia. *Isoflurane* adalah agen anestesi inhalan yang disukai dan konsentrasi pengaturan pada *vaporizer* harus berkisar 3-4% untuk menginduksi anestesi. Setelah kedalaman anestesi yang tepat dicapai maka pengaturan *vaporizer* dapat ditingkatkan sampai 5% untuk menginduksi kematian dan hewan harus tetap berada di ruangan *chamber* 2 menit setelah pernapasan berhenti.

Eutanasia dengan dislokasi leher tanpa pemberian anestesi dapat dilakukan pada mencit dengan berat badan kurang dari 200 gram, namun harus dilakukan oleh personel yang telah mendapatkan pelatihan. Teknik eutanasia ini hanya boleh digunakan dengan justifikasi ilmiah dan disetujui oleh IACUC,

begitu juga untuk eutanasia mencit secara dekapitasi tanpa anestesi.

B. Tikus

Tikus yang digunakan dalam penelitian sebagai hewan model termasuk spesies *Rattus norvegicus*. Tikus digolongkan dalam kelas mamalia, ordo rodensia. Spesies tikus ini adalah tikus norwegia yang hidup dalam liang tanah dan telah berevolusi menjadi *Rattus norvegicus*.

Tikus berbeda dengan mencit, karena memiliki ukuran tubuh yang lebih besar. Sifat tikus lainnya yang berbeda dengan mencit adalah tidak mudah muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lambung dan tidak memiliki kantung empedu (Chaqiqi 2013).

Berat badan tikus dapat mencapai 200-300 gram pada umur 2 bulan. Berat badan tikus betina dewasa mencapai 350-450 gram, sedangkan tikus jantan adalah 450-650 gram (Quesenberry & Boschert, 2020). Ukuran berat badan yang relatif besar memudahkan tikus untuk dikendalikan, sehingga dapat diambil darahnya dalam volume yang lebih besar dibandingkan mencit (Kusumawati, 2004).

1. Karakteristik Tikus ,

Secara alami, tikus merupakan hewan nokturnal (beraktivitas pada malam hari). Tikus memiliki mata samping yang kecil, dan relatif kurang bagus visinya dengan bidang teropong yang lebih kecil daripada mata manusia, sehingga menghasilkan persepsi kedalaman yang rendah. Kemungkinan tikus memiliki beberapa penglihatan warna, khususnya dalam spektrum warna biru-hijau (Burn 2008). Tikus albino sensitif terhadap

lampu, karena memiliki retina *amelanotic*, dan mungkin menderita kerusakan permanen jika terkena cahaya dengan tingkat di atas 150 lux untuk waktu yang lama (Rao, 1991). Penglihatan tikus relatif buruk namun sensitif terhadap gerakan dan akan terkejut sebagai respons terhadap gerakan yang cepat atau tiba-tiba (Douglas *et al.*, 2006)

Vibrissae tikus sangat penting untuk membantu navigasi lingkungan sekitarnya dibandingkan dengan isyarat visual. Pendengaran tikus lebih sensitif pada frekuensi ultrasonik dengan sensitivitas pendengaran puncak antara 8-50 kHz (Turner *et al.*, 2005). Suara frekuensi yang lebih rendah dianggap sebagai getaran dan dapat terdeteksi oleh sistem *mechanosensory* dan *vibrissae*. Getaran bisa menjadi sumber stres bagi tikus yang signifikan (Norton *et al.*, 2011).

Tikus memiliki tingkat pernapasan dan metabolisme yang cepat tetapi cenderung kurang peka terhadap alergen di lingkungannya karena tingkat histamin paru yang dilepaskan dan inervasi adrenergik dari bronkiolus rendah, dibandingkan dengan spesies lain seperti marmot (Kling, 2011). Tikus bernapas melalui hidung dan tingkat respirasi meningkat bila terjadi peningkatan suhu. Proses pendinginan suhu tubuh dapat terjadi melalui pembuluh darah dalam telinga dan ekor tikus. Ketika suhu ambien rendah, hewan akan meringkuk, bulu berdiri (piloereksi) dan ekor disembunyikan, yang merupakan perilaku untuk meminimalkan kehilangan panas (Uchida *et al.*, 2012).

Tikus adalah hewan yang memiliki tingkat inteligensia tinggi. Spesies ini merupakan hewan sosial yang aktif dan di alam liar tinggal dalam koloni besar yang terdiri dari 100 ekor atau lebih. Kelompok-kelompok kecil hingga delapan betina dapat berbagi sarang yang terpisah pada liang yang sama. Struktur koloni sosial didasarkan pada hierarki yang

didominasi oleh pejantan, dengan ukuran tubuh yang besar. Dalam populasi dengan kepadatan rendah, baik pejantan dan betina bersifat teritorial, tetapi dalam lingkungan dengan kepadatan tinggi, jantan akan menjadi penguasa.

Tikus di alam liar akan mempertahankan wilayah dari penyusup, namun tikus jantan remaja dapat diterima dalam koloni yang berbeda. Walaupun ada perbedaan yang jelas dalam ukuran dan perilaku antara *strains* liar dan tikus domestik, perilaku liar tikus domestik dengan cepat akan kembali jika ada kesempatan.

Tikus mempunyai penciuman yang sangat tajam dan organ pembantu dalam penciuman (*vomeronasal*) besar untuk mendeteksi feromon yang terlibat dalam seksualitas dan perilaku seksual lainnya. Tikus mempunyai kemampuan komunikasi ultrasonik antara kelompoknya untuk menunjukkan rasa takut, rasa sakit, dan interaksi agonistik. Tikus berkomunikasi melalui vokalisasi ultrasonik dengan frekuensi suara 22 kHz yang dikaitkan dengan keadaan stres. Sedangkan pada frekuensi 40-50 kHz mencerminkan keadaan emosional yang positif (Panksepp & Burgdorf, 2000).

2. Sistem Pemeliharaan

Berdasarkan perilaku alami, tikus adalah spesies sosial dan harus ditempatkan berpasangan atau berkelompok serta ditempatkan dalam area cukup luas agar dapat menjalankan kehidupan sosial alaminya (bersembunyi, eksplorasi, istirahat, manjat, dan lainnya). Tikus jantan sebaiknya tidak ditempatkan dengan tikus jantan lainnya karena akan terjadi perkelahian. Sedangkan tikus betina dapat ditempatkan dengan tikus betina lainnya. Namun, idealnya tikus ditempatkan perpasangannya.

Pemeliharaan tikus dalam jumlah besar membutuhkan personel kandang serta biaya yang harus dikeluarkan yang lebih besar sehingga perlu dipertimbangkan jumlah personel dan biaya yang harus dikeluarkan. Beberapa fitur khusus antara lain lingkungan sosial, ruang, konfigurasi kendang, dan perbaikan lingkungan atapun modifikasi lainnya perlu dipertimbangkan dalam pengembangan kandang.

Pemeliharaan tikus dalam kandang di laboratorium harus disesuaikan dengan lingkungan aslinya sesuai kesejahteraan hewan. Pengaturan perkandangan yang ideal harus mempertimbangkan aspek sosial, alat gerak, fisiologis, dan persyaratan perilaku spesies tertentu.

Beberapa hal perlu diperhatikan untuk memastikan kesejahteraan tikus antara lain: metode identifikasi individu hewan yang tidak menyakitkan, bahan yang digunakan untuk kandang tidak beracun dan melukai, sanitasi kandang secara rutin, dan berbagai aspek lingkungan fisik seperti cahaya, suara, suhu serta getaran (NC3Rs).

a. Kandang tikus

Tikus perlu ditempatkan dalam kandang dengan populasi tidak terlalu padat pada saat dibuat kelompok atau konfigurasi kandang dibuat sedemikian rupa agar dapat menghambat visualisasi antara hewan sehingga meminimalkan interaksi *agonistic*.

Luas lantai kandang untuk sekelompok tikus dengan jumlah hingga lima ekor tikus dengan berat badan 250-300 gram adalah 1.500 cm² dan sebaiknya 1.800 cm² (Scharmann, 1991; Patterson-Kane, 2002). Penempatan tikus dalam kelompok yang lebih besar harus dikurangi atau luas lantai kandang harus

dingkatkan dengan pertimbangan tikus dapat tumbuh normal dan dapat bermain termasuk melakukan interaksi sosial.

Tinggi kandang tikus dengan berat 250-300 gram adalah 22 cm yang memungkinkan tikus untuk meregang tegak sepenuhnya. Kandang tikus yang tersedia saat ini memiliki ketinggian maksimum sekitar 22-24 cm. Kandang tikus harus dibuat dari plastik (misalnya *polypropylene*, *polycarbonate*, *polysulphone*, *polyetherimide*) lantai dan dinding bak dengan *wire mesh* pada puncaknya kecuali kandang untuk tujuan khusus seperti kandang dengan filter pada bagian atas kandang atau berventilasi. Suhu ruangan kandang direkomendasikan berkisar antara 20-26°C dengan kelembapan udara berkisar 40-70%. Jika suhu dan kelembapan melebihi persyaratan maka perlu dipasang AC dalam ruang di mana kandang ditempatkan.

Kandang tikus harus dilengkapi oleh alas dan insulasi pada kedalaman tertentu sehingga tikus dapat menggali, mencari makan, dan lainnya. Alas kandang sebaiknya berbasis kayu berupa serpihan kayu yang bersifat absorbans. Penggunaan bahan untuk tikus bersarang terbukti memiliki efek positif fisiologis dan psikologis tikus sehingga harus dipertimbangkan sebagai pengayaan di setiap kandang tikus (Vitalo *et al.*, 2012).

Seperti banyak hewan pengerat lainnya, gigi depan tikus terus tumbuh sepanjang hidupnya, sehingga kandang perlu dilengkapi barang-barang keras untuk mengerat (balok kayu, tongkat). Beberapa jenis bahan untuk pengayaan tikus antara lain: *shelter* dari plastik untuk *exercise*.

b. Pemberian pakan dan minum

Pemberian pakan dan minum pada hewan harus mencukupi untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang optimal dengan menyediakan air segar dan pengaturan nutrisi yang

memadai. Pakan dan air minum harus disediakan secara *ad libitum* kecuali izin khusus telah diperoleh dari komisi etik hewan.

Variasi jenis makanan harus disediakan misalnya, pelet komersial, biji bunga matahari kering, jagung rebus, dan sayuran segar. Pakan tikus harus disediakan tidak hanya di tempat pakan, tetapi juga harus ditaburkan ke *bedding* lantai kandang untuk menambah minat makan, mengekspresikan perilaku mencari makan dan menunjukkan postur normal selama makan. Pola makan nokturnal dari tikus harus diperhitungkan dalam desain penelitian terutama bila diberikan obat dalam pakan.

Kandungan gizi yang diperlukan dalam pakan tikus antara lain protein (4,2%), lemak (5%), dan energi ternak (3800 kkal/kg) (AFRMA, 2016). Kebutuhan pakan per hari tikus sebanyak 8-25 gram/ekor/hari (pertumbuhan), 25-30 gram/ekor/hari (dewasa), 25-35 gram/ekor/hari (bunting) dan 35-65 gram/ekor/hari (menyusui).

c. Pemberian nomor identitas tikus

Identifikasi hewan pada hewan dewasa sangat berguna dalam prosedur penelitian di laboratorium berdasarkan *Guide for the care and use of laboratory animals* (ILR 1996). Metode yang dipilih sebaiknya yang menggunakan metode noninvasif seperti pada kandang dan kartu keterangan. Jika diperlukan identifikasi hewan permanen maka penggunaan penanda permanen nontoksik atau jika nonpermanen identifikasi dilakukan pada leher, kepala, bagian belakang, kaki, atau ekor.

Beberapa metode invasif yang biasa digunakan adalah *ear tag*, *tattoo*, *microtattoo*, *microchip*, lubang telinga, atau *toe clip*. Jika memungkinkan, sebaiknya digunakan sedatif atau analgesik lokal seperti *lidocaine* atau anestesi dalam bentuk *spray* untuk

meminimalisasi rasa sakit. Personel yang melakukan prosedur ini harus terlatih karena kontribusinya sangat besar dalam mempersiapkan prosedur eksperimen selanjutnya.

Pemberian nomor identifikasi tikus yang digunakan dalam penelitian dengan jangka waktu yang lama dapat menggunakan *micro tattoo*, *micro chip* dan *toe clip*. Sedangkan penelitian dalam jangka waktu pendek dapat menggunakan *hair clip*, marker yang permanen, dan *hair color*.

d. Karantina dan aklimatisasi tikus

Tikus yang baru datang dan akan digunakan dalam penelitian, perlu dilakukan karantina dan aklimatisasi terlebih dahulu, untuk mengurangi stres selama transportasi (Obernier & Baldwin, 2006). Apabila tikus tersebut diperoleh dari penyedia yang telah diakui profil kesehatan hewannya, maka tidak diperlukan tindakan karantina namun tetap diperlukan minimal aklimatisasi (penyesuaian dengan kondisi sekitar) selama 72 jam. Selama tindakan karantina dan aklimatisasi dilakukan observasi kesehatan dan fisiologis tubuh serta adaptasi dengan pemelihara yang baru, kandang, lingkungan sekitar, pakan dan sirkulasi cahaya.

Tidak dilakukannya periode aklimatisasi akan berpengaruh terhadap hormon reproduksi, fungsi fisiologi (aktivitas, denyut jantung, temperatur, respiration), imunologi, dan peningkatan level *corticosteroid* (Jeniffer *et al.* 2007).

e. Penanganan dan pengendalian tikus

Prosedur penanganan tikus sangat penting bagi petugas sehingga petugas kandang harus memahami bagaimana prosedur yang baik dan benar untuk meminimalisasi rasa takut dan tertekan. Spesies tikus bernapas hanya melalui hidung,

maka penanganan dan pengendalian harus diupayakan sedemikian rupa agar tidak menyumbat lubang hidung tikus. Oleh karena itu petugas harus mempunyai kompetensi dan pengalaman yang dapat diperoleh melalui pelatihan.

Cara memegang tikus yang benar seperti terlihat dalam Gambar 6. Tikus dipegang secara lembut dengan menggenggam secara erat serta meminimalkan gerakan hewan. Ibu jari dan telunjuk di atas bahu sisi kanan atau kiri leher tikus. Sementara jari tengah, jari manis, dan kelingking diletakkan di sisi kaki depan lainnya untuk menahan sehingga dapat mencegah gigitan tikus. Tikus harus dipegang dengan erat tapi tidak terlalu kuat karena hal ini dapat menghambat pernapasan.



Foto Koleksi KKHB, fotografer: April HW (2016)

Gambar 6. Cara Memegang dan Mengangkat
Tikus yang Benar

Memegang tikus terlalu kuat dapat mengganggu pernapasan dan menyebabkan sianosis. Hasil sebuah studi menunjukkan bahwa denyut jantung tikus yang diukur dengan *telemeter-instrumented rat* lebih cepat jika dipegang dengan teknik *scruffing* dibandingkan dengan menggenggam erat, menggunakan plastik kerucut, atau memegang ekor (Baturaite *et al.* 2005).

Tikus merupakan hewan jinak, terutama jika ditangani secara rutin dengan menggunakan teknik yang tepat. Gigitan tikus jarang terjadi dan biasanya hanya akan terjadi jika hewan tersebut mengalami stres atau sakit. Untuk memegang tikus harus dilakukan dengan lembut dimulai dari memegang di sekitar bahu.

Periode penanganan harian yang singkat akan mengurangi kecemasan pada tikus terutama pada penelitian yang dilakukan dalam jangka waktu yang lama (Costa *et al.*, 2012). Meskipun tikus biasanya diangkat pada bagian ekor, namun teknik ini menyebabkan lebih banyak kecemasan dan ketakutan daripada mengangkat seluruh tubuhnya dengan menggunakan tangan. Tikus yang diangkat pada bagian ekornya menunjukkan gejala buang air kecil dan buang air besar dengan jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan tikus yang dipegang bagian badannya (Hurst & Barat, 2000).

3. Koleksi Darah

Pengambilan darah pada tikus harus dilakukan oleh personel yang terlatih agar meminimalkan rasa sakit dan stres. Proses pengambilan darah harus dilakukan secara aseptis, dengan cara membersihkan area pengambilan darah menggunakan kapas alkohol 70%.

Koleksi darah pada tikus dapat dilakukan melalui anestesi dan nonanestesi. Koleksi darah melalui anestesi umum hanya

dilakukan pada pengambilan darah dari *vena saphena*, vena ekor dan *vena sublingual*, namun pengambilan darah di *vena sublingual* jarang dilakukan. Sedangkan koleksi darah tanpa anestesi umum dilakukan di *vena jugularis* dan teknik kanulasi. Pengambilan darah pada tikus yang diterminasi dilakukan melalui *cardiac puncture* (pungsi jantung), *vena retro orbitalis*, pembuluh darah *abdominal* atau *torax*.

Dalam semua kasus, koleksi darah tanpa cairan pengganti hanya diperbolehkan 10% dari total volume sirkulasi darah dari hewan yang sehat selama periode 2 minggu. Rata-rata, total volume sirkulasi darah setara dengan 6-8% dari berat tubuh hewan atau 6-8 ml darah per 100 gram bobot badan. Jika jumlah yang lebih besar diperlukan, maka tidak boleh melebihi 15% dari total volume sirkulasi darah dan cairan pengganti harus diberikan pada saat pengambilan darah. Pengambilan 15% dari total volume darah harus dijelaskan dalam protokol hewan dan disetujui oleh komisi etik.

Pengambilan volume darah tikus yang aman yang dapat dilakukan: sekitar 10% dari volume darah untuk rentan waktu pengambilan 2-4 minggu; 7,5% untuk 7 hari; 1% untuk 24 jam (ILAR, 1996).

Rata-rata tikus memiliki volume darah sekitar 64 ml/kg berat badan. Misal tikus dengan berat badan 400 gram akan memiliki total volume darah sekitar $64 \text{ ml/kg} \times 0,4 \text{ kg} = 25,6 \text{ ml}$. Volume darah yang dapat diambil pada sekali pengambilan adalah <10% total volume darah sekitar 2,56 ml. Pada pengulangan pengambilan darah dalam waktu interval yang pendek disarankan <1% total volume darah (0,25 ml) dalam waktu 24 jam dan disarankan menggunakan kanulasi (NC3Rs).

Menurut prosedur, pengambilan darah yang aman adalah sebagai berikut:

1. Jumlah maksimum volume darah yang dapat dikoleksi dalam satu kali pengambilan darah adalah 10-15% dari total volume darah atau 1% dari bobot badan.
2. Volume darah hewan dapat kembali dalam 24 jam namun eritrosit dan retikulosit mungkin belum mencapai jumlah normal dalam waktu dua minggu.
3. Pengambilan darah setiap hari dimungkinkan namun harus dipertimbangkan adanya faktor stres atau mungkin diperlukan anestesi.
4. Pengambilan darah sebanyak 2% dari total volume darah diperbolehkan namun dengan mengganti cairan pengganti steril yang hangat pada saat pengambilan darah yang diberikan secara intravena dengan volume sebanyak 2 kali dari total darah yang diambil secara perlahan dengan kecepatan yang sama. Jika pemberian cairan secara intravena tidak memungkinkan maka dapat diberikan secara *intraperitoneal* atau subkutan.
5. Kehilangan darah sebanyak 15-25% dapat meningkatkan konsentrasi plasma epineprin, norepineprin, dan kortisteron sebagai upaya untuk menurunkan level plasma konsentrasi glukosa.
6. Kehilangan darah sebanyak 20-25% dapat menurunkan tekanan darah arteri, output jantung dan pengiriman oksigen ke organ vital, dan akan menyebabkan *hipovolemia* serta gagal jantung (*cardiac shock*).

Volume darah yang dapat dikoleksi berdasarkan berat badan seperti tercantum pada Tabel 6.

Tabel 6. Volume Darah yang dapat Dikoleksi Berdasarkan Berat Badan (BB) (Anonymous, 2021)

BB (g)	*CBV (ml)	1% CBV (ml) setiap 24 jam **	7.5% CBV (ml) setiap 7 hari **	10% CBV (ml) setiap 2-4 minggu**
20	1,10-1,40	0,011-0,014	0,082-0,105	0,11-0,14
25	1,37-1,75	0,014-0,018	0,10-0,13	0,14-0,18
30	1,65-2,10	0,017-0,021	0,12-0,16	0,17-0,21
35	1,93-2,45	0,019-0,025	0,14-0,18	0,19-0,25
40	2,20-2,80	0,022-0,28	0,16-0,21	0,22-0,28
125	6,88-8,75	0,069-0,088	0,52-0,66	0,69-0,88
150	8,25-10,50	0,082-0,105	0,62-0,79	0,82-1,00
200	11,00-14,00	0,11-0,14	0,82-1,05	1,10-1,40
250	13,75-17,50	0,14-0,18	1,00-1,30	1,40-1,80
300	16,50-21,00	0,17-0,21	1,20-1,60	1,70-2,10
350	19,25-24,50	0,19-0,25	1,40-1,80	1,90-2,50

*CBV (Circulating Blood Volume) = volume darah yang bersirkulasi

** Volume sampel darah untuk pengambilan berulang

Ketika melakukan pengambilan darah sebaiknya selalu diamati dan diperhatikan tanda-tanda dari *distress* atau anemia (misal, napas cepat, pucat, kelemahan otot, dan lain-lain). Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap kemungkinan ada trauma lokal, infeksi, atau iritasi pada lokasi pengambilan darah. Koleksi darah perlu diatur untuk mempertahankan status kesehatan hewan dan menjaga validitas hasil eksperimen. Pengambilan darah diperbolehkan untuk hewan dewasa yang sehat dan normal, namun tidak diperbolehkan pada hewan yang masih berusia muda, stres, telah mengalami manipulasi eksperimental, mengalami kelainan jantung atau pernapsan.

Tabel 7. Keuntungan dan Kerugian Berdasarkan Lokasi Pengambilan Darah

Lokasi	Keuntungan	Kerugian
Vena lateral ekor	Tidak diperlukan anestesi. Vena mudah diketemukan Dapat diambil berulang	Harus di-restrain agar aman Untuk volume yang sedikit Memerlukan beberapa peralatan khusus
Arteri ventral	Volume dengan jumlah medium Dapat diambil berulang	Diperlukan anestesi Memerlukan beberapa peralatan khusus
Vena <i>jugularis</i>	Volume dalam jumlah besar dan menengah Sampel yang dihasilkan berkualitas tinggi	Tidak diizinkan smpling berulang Diperlukan anestesi Diperlukan keahlian dan ketrampilan teknis.
Vena <i>saphenous lateral</i>	Tidak diperlukan anestesi Dapat dilakukan sampling berulang Volume dalam jumlah sedang	Diperlukan <i>training</i> dan beberapa peralatan khusus. Kualitas/kuantitas bervariasi
Pungsi jantung (<i>cardiac puncture</i>)	Volume darah dapat dikoleksi sebanyak-banyaknya Diperlukan anestesi umum	Hanya untuk prosedur hewan yang akan diterminasi (non-survival)

a. Vena lateral atau arteri ventral ekor

Tikus mempunyai dua pembuluh darah yaitu dua vena di lateral ekor dan satu arteri di ventral ekor. Untuk pengambilan darah dengan volume darah yang besar dapat diambil di arteri, namun diperlukan perawatan untuk menghindari hemostasis.

Pengambilan sampel darah melalui vena lateral atau arteri ventral ekor mudah dilakukan, tetapi sampel yang dihasilkan kualitasnya bervariasi karena kemungkinan dapat

terkontaminasi jaringan kulit yang mengelupas. Namun dengan teknik ini pengulangan pengambilan darah dapat dilakukan.

- Metode ini digunakan untuk koleksi darah dalam jumlah besar (0,1-2 ml/pengambilan).
- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung kapiler untuk koleksi darah dan jarum 21-23G.
- Tikus diletakkan dalam ruang penghangat (*warming chamber* pada suhu 38°C selama 10 menit) atau dibungkus dengan handuk hangat agar vena melebar (vasodilatasi).
- Tikus dimasukkan dalam *restrainer* berbentuk kerucut.
- Sekitar vena ekor diusap alkohol 70%.
- *Cream* anestesi lokal dioleskan pada permukaan ekor 30 menit sebelum pengambilan darah.
- Ekor ditekan menggunakan jari 1/3 dari ujung ekor agar vena ekor mudah terlihat.
- Vena ekor ditusuk menggunakan jarum 21-23G atau jarum kupu-kupu (*lancet*).
- Darah dikoleksi menggunakan tabung kapiler/*syringe*.

b. *Vena lateral sapheneous*

Metode koleksi sampel darah melalui vena lateral *saphenous* sangat mudah dan sering digunakan ketika diperlukan serangkaian pengambilan darah secara serial. Metode ini tidak memerlukan anestesi dan dapat dilakukan secara berikut:

- Tempatkan tikus dalam tabung berbentuk kerucut dan cukur permukaan paha belakang sehingga terlihat permukaan *vena saphena*.
- Oleskan pelumas minyak atau *jelly* lalu tempatkan *tourniquet* di atas lutut untuk membendung vena dan gerakan kaki tikus hingga vena terlihat.

- Jarum ukuran 23G ditusukkan pada *vena saphena* tegak lurus (perpendikularis) kaki dan darah dapat ditampung dalam tabung hematokrit.
- Setelah darah diambil, *tourniquet* dilepas dan pembuluh darah ditekan dengan kain kasa di tempat tusukan.
- Jika diperlukan pengambilan sampel yang hanya berjarak beberapa jam, keropeng biasanya dapat dibuka kembali dan darah dapat ditampung kembali.

c. *Vena jugularis*

Teknik ini cocok untuk memperoleh darah dengan volume menengah sampai besar dengan kualitas baik. Metode ini dapat dilakukan tanpa anestesi. Namun metode ini tidak mudah untuk sampling darah secara serial. Perawatan harus dilakukan untuk menghindari pembentukan hematoma dan harus selalu melakukan tekanan di lokasi tusukan selama minimal 30 detik.

- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung kapiler untuk koleksi darah, dan jarum 23G.
- Tikus di-restrain dengan menahan kepala menggunakan *headcap* untuk melindungi dari gigitan tikus.
- Daerah leher tikus dicukur kemudian diusapkan alkohol 70%, kemudian dilakukan pembendungan *vena jugularis*.
- *Vena jugularis* akan terlihat pada persimpangan *sternoclavicular*.
- Jarum 23G ditusukkan ke *vena jugularis* dari arah bawah ke atas (*caudocephalic*) dan kemudian darah ditarik pelan-pelan dengan sudut kemiringan 20-30 derajat.

d. *Sinus retro-orbital/plexus sample*

Sebelum melakukan pengambilan darah dengan metode ini, tikus dibius terlebih dahulu. Lokasi pengambilan darah pada

sinus retro-orbitalis pada tikus atau pleksus. Pengambilan darah dapat dilakukan menggunakan pipet pasteur dengan menusukkan pipet pada sudut kemiringan 45°. Metode ini dapat menghasilkan volume darah dalam jumlah besar, namun dapat mengakibatkan trauma pada mata. Sampel dapat diperoleh pada kedua mata secara bergantian.

- Siapkan sarung tangan, tabung kapiler/pipet pasteur, dan anestesi.
- Pengambilan darah dengan metode ini hanya dilakukan pada hewan yang akan diterminasi dan harus dilakukan pada kondisi teranestesi.
- Tikus di-*restrain* dengan memegang bagian leher secara hati-hati sehingga matanya menonjol dan harus dilakukan oleh orang yang kompeten.
- Pipa kapiler ditusukkan ke dalam vena sinus dengan posisi kemiringan 30 derajat dan biarkan darah mengalir secara kapiler.
- Maksimal volume darah yang dapat dikoleksi sebanyak 0,5 ml.

e. *Cardiac puncture*

- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung untuk koleksi darah, jarum 19-21G, dan *syringe* 1-5 ml.
- Pungsi jantung cocok untuk pengambilan darah dari tikus yang dianestesi atau terminasi.
- Sampel darah sebaiknya diambil dari ventrikel yang dapat diakses melalui sisi kiri dada, melalui diafragma, dari atas tulang dada atau dengan melakukan torakotomi.
- Darah diambil secara perlahan agar jantung tidak kolaps.
- Volume darah sampel yang dapat dikoleksi maksimal 15 ml.

- Metode ini dilakukan untuk keperluan pengambilan darah aseptis.

f. *Vena abdominal/thorax*

- Siapkan sarung tangan, *restrainer*, tabung untuk koleksi darah, jarum 19-21G, *syringe* 1-5 ml.
- Koleksi darah dari *vena abdominal/thorax* cocok untuk pengambilan darah dari tikus yang dianestesi atau terminasi.
- Teknik ini dapat digunakan untuk menghindari kerusakan jantung.
- Darah dikoleksi dari aorta abdominal atau *aorta abdominal/dorsal*, *vena cava* atau *vena portal hepatica* yang dapat dilakukan melalui proses laparotomi atau torakotomi.
- Darah diambil secara perlahan agar pembuluh darah tidak kolaps.
- Volume darah *sample* yang dapat dikoleksi maksimal 10 ml dari *vena portal hepatica* atau 15 ml dari *vena abdominal/thorax* tergantung dari berat badan tikus.
- Metode ini dilakukan untuk keperluan pengambilan darah aseptis.

4. Anestesi pada tikus

Tikus tidak perlu dipuasakan sebelum anestesi karena tidak mempunyai kemampuan/refleks muntah. Sebelum dianestesi, sebaiknya mata tikus ditutup dengan menggunakan kapas yang dicelupkan air hangat atau salep mata, untuk menghindari pengeringan pada kornea, karena mata tikus biasanya tetap terbuka pada saat anestesi. Tikus dapat dianestesi dengan inhalasi gas atau obat suntik. Penggunaan gas inhalasia merupakan metode anestesi yang disukai. Selama dalam

kondisi teranestesi, tikus akan kehilangan panas secara cepat sehingga badan tikus perlu dibuat hangat dengan menutupinya memakai kasa *pad* atau handuk dan/atau menyediakan sumber panas sampai hewan telah pulih dari anestesi. Jangan pernah meninggalkan hewan dalam kondisi teranestesi tanpa pengawasan. Jenis dan dosis anestesi pada tikus seperti tercantum pada Tabel 8.

Tabel 8. Agen dan Dosis Anestesi pada Tikus

Jenis anestesi	Dosis	Durasi anestesi
<i>Ketamine/xylazin</i>	<i>Ketamine</i> 40-100 mg/kg IP <i>Xylazin</i> 5-13 mg/kg IP	60-80 menit
<i>Ketamine/xylazin cocktail*</i>	<i>KX cocktail</i> 0,1 ml/100g BB, IP, terdiri dari: 91 mg/kg <i>Ketamine</i> 9,1 mg/kg <i>Xylazin</i>	60-80 menit
<i>Ketamine/xylazin/acepromazine</i>	<i>Ketamine</i> 20-50 mg/kg IP <i>Xylazin</i> 2-10 mg/kg IP <i>Acepromazine</i> 0,5-1,5 mg/kg IP	60-120 menit
<i>Pentobarbital</i>	30-50 mg/kg IP	90-120 menit

Anestesi dan analgesia harus diberikan kepada tikus yang menjalani operasi untuk mengoptimalkan perawatan. Banyak obat nyeri memiliki waktu paruh pendek sehingga hewan harus dimonitor untuk indeks perilaku nyeri dan *distress*.

5. Analgesia

Analgesia diberikan pada tikus untuk meminimalkan rasa sakit atau penderitaan yang dialami oleh tikus selama prosedur *invasive* diberikan dalam mengurangi tingkat stres yang dapat

menyebabkan dampak pada hasil penelitian. Karena itu, analgesia perlu diberikan, terutama pada prosedur pascabeda, *intracavitory* atau injeksi intravaskuler, kateterisasi pembuluh darah, atau penetrasi *endocavitory*. Pada kondisi ini, perlu diberikan analgesia yang memadai untuk mengurangi rasa sakit pascaoperasi akut.

Ada beberapa macam *analgesic* yang digunakan pada tikus dengan beberapa pertimbangan: berikan *analgesic* dengan dosis yang tepat, berikan pada interval waktu yang tepat, dan hentikan pemberian *analgesic* setelah operasi. Agen analgesia yang direkomendasikan pada tikus dan umumnya berhasil dengan baik tercantum pada Tabel 9.

Opioid biasanya digunakan pada hewan yang memberikan efek nyeri dengan tingkat sedang atau berat. Opioid memiliki durasi yang relatif singkat pada rodensia kecil karena tingkat metabolismenya lebih cepat dibandingkan dengan spesies yang lebih besar. Oleh karena itu, untuk analgesik pada tikus lebih dipilih buprenorfirin yang memiliki durasi panjang.

Sebagai alternatif atau tambahan untuk administrasi opioid pada tikus dianjurkan juga penggunaan obat antiinflamasi. Anestesi lokal atau aplikasi *lidocaine* atau krim *prilocaine* secara

Tabel 9. Rekomendasi Jenis Analgesik pada Tikus (ULAM 2020)

Jenis analgesik	Dosis dan rute	Durasi
<i>Meloxicam</i> (NSAID)*	1-2 mg/kg SC atau PO	12-24 jam selama 3 hari
<i>Carprofen</i> (NSAID)	5 mg/kg SC	24 jam, selama 3 hari
<i>Ketoprofen</i> (NSAID)	2-5 mg/kg SC	24 jam, selama 3 hari
<i>Buprenorphine</i> (opioid)	0,01-0,05 mg/kg SC atau IP	8-12 jam
<i>Buprenorphine</i> (extended release)	0,65 mg/kg SC	72 jam
<i>Flunixin</i>	2,5 mg/kg SC	12 jam

*NSAID: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug

topikal juga dapat digunakan untuk analgesik tikus pra dan pascaoperasi karena dapat memblokir saraf, sebagai analgesia pusat dan infiltrasi ke bekas operasi (Flecknell, 1989; Flecknell, 1998). Pemberian salep mata *ossibuprocaine* dapat digunakan pada mata tikus yang mendapat perlakuan menyakitkan.

6. Antibiotik

Pemberian antibiotik pada tikus harus memenuhi persyaratan yang telah ditentukan peruntukannya karena kesalahan pemberian jenis antibiotik dapat mengakibatkan reaksi yang fatal pada tikus, contohnya antibiotik *streptomycin*, *dihidrostreptomicin*, komponen *procain* dari *penicillin*. Antibiotik sistemis yang paling aman dan tidak berbahaya bagi populasi simbiosis bakteri usus tikus adalah golongan *fluoroquinolon* (*enrofloxacin* dan *ciprofloxacin*), tetrasiklin, gentamisin, klorampenikol palmitat, dan kombinasi *thrimetroprim-sulfonamid*. Rekomendasi dosis antibiotik untuk tikus seperti tercantum pada Tabel 10.

Tabel 10. Dosis Antibiotik untuk Tikus

Jenis antibiotik	Dosis
<i>Enrofloxacin</i>	10 mg/kg PO
<i>Gentamisin</i>	5-10 mg/kg PO
<i>Tetrasiklin</i>	3 mg/ml namun pemberian antibiotik melalui air minum
<i>Doksisiklin</i>	5-10 mg/kg PO
<i>Chloramphenikol palmitat</i>	mg/kg PO

7. Eutanasia

Eutanasia (mengakhiri kehidupan hewan) pada akhir penelitian, pada kondisi kejadian yang tak terduga, atau ketika human *endpoint* (mematikan hewan secara manusiawi) setelah studi tercapai, merupakan tanggung jawab peneliti. Semua personel yang melakukan eutanasia harus mendapat pelatihan untuk melakukannya dengan hati-hati dan efisien serta harus mengetahui metode pemantauan dan memastikan kematian hewan. Auskultasi dari jantung tikus sering tidak memungkinkan setelah dilakukan euthanasia, maka untuk memastikan kematian tikus dianjurkan menggunakan beberapa metode, misalnya dengan torakotomi, eksanguinasi, atau dislokasi leher.

Selain prosedur mematikan hewan secara manusiawi, perlu dipertimbangkan lokasi dilakukan eutanasia untuk menghindari *distress* atau rasa takut. Hal ini sebenarnya bukan *stressor* signifikan untuk tikus (Sharp *et al.*, 2002), tetapi akan lebih baik jika eutanasia dilakukan di luar ruangan kandang. Hewan yang akan dieutanasia harus diangkut ke lokasi eutanasia dengan hati-hati dan tidak boleh dicampur dengan hewan asing di kamar gas sementara hewan dalam keadaan sadar. Eutanasia harus dilakukan sedemikian rupa sehingga hewan menjadi tidak sadar dengan cepat, diikuti segera hilangnya aliran darah otak dan fungsi jantung.

Metode eutanasia pada tikus harus menggunakan metode standar yang disetujui secara internasional (AVMA, 2007; CCAC, 2010). Dampak negatif dari eutanasia tikus pada kesehatan mental para pengasuh hewan, personel penelitian, dan dokter hewan tidak boleh dianggap remeh. Rotasi personel yang melakukan nekropsi, merencanakan eutanasia, dan memberikan kesempatan untuk mendiskusikan perasaan yang

terkait dengan prosedur dapat membantu dalam mengurangi perasaan tidak nyaman terkait prosedur eutanasia. Agen eutanasia yang dapat dipakai pada tikus adalah:

a. Agen noninhalasi

Barbiturat dan derivat asam barbiturat dapat membuat tikus kehilangan kesadaran dengan cepat dan mudah. Apabila akses vaskular terlihat, administrasi secara intravena (IV) lebih disukai, namun rute *intraperitoneal* (IP) adalah yang paling praktis. Nyeri kemungkinan terjadi ketika suntikan diberikan melalui rute IP, tetapi tingkat nyeri dan metode untuk mengendalikan rasa sakit masih belum didefinisikan. Dosis eutanasia biasanya tiga kali dosis anestesi. Pentobarbital adalah barbiturat yang paling umum digunakan untuk hewan rodensia karena reaksinya sangat cepat dalam mengakhiri hidup hewan.

Kombinasi injeksi barbiturat dengan anestesi lokal dan antikonvulsan paling umum digunakan. Barbiturat dengan dosis yang cukup merupakan komponen yang paling penting dalam kombinasi ini. Kombinasi dosis agen disosiatif seperti ketamin adalah agen yang sering digunakan dalam laboratorium. Pada beberapa spesies, ketamin saja dapat mengakibatkan aktivitas stimulasi sebelum sedasi dan kehilangan kesadaran. Pada rodensia, ketamin dan agen disosiatif yang sama harus digunakan dalam kombinasi dengan agonis reseptor α_2 -adrenergik seperti *xylazin* atau *benzodiazepin* seperti *diazepam*.

b. Agen inhalasi

Anestesi inhalasi seperti *halothane*, *isoflurane*, *sevofluran*, atau *desflurane* dengan atau tanpa *Nitrous oxide* (N_2O) dapat digunakan untuk eutanasia rodensia. *Nitrous oxide* tidak boleh digunakan sendiri untuk eutanasia. Agen ini mungkin berguna

dalam kasus di mana pengendalian fisik hewan sulit dilakukan atau tidak praktis. Ketika eutanasia dilakukan dengan agen inhalasi yang diberikan melalui *vaporizer* atau ruang anestesi (teknik *open-drop*), mungkin perlu jangka waktu yang lama untuk memastikan kematian hewan. Penggunaan anestesi inhalasi untuk praanestesi dapat digunakan *chamber* dengan penambahan CO₂. Hal penting yang perlu diperhatikan pada waktu melakukan eutanasia adalah memverifikasi bahwa hewan mati ketika agen diinhalasi. Kematian dapat dikonfirmasi dengan pemeriksaan fisik.

C. Kelinci

Kelinci banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian terutama terkait produksi antibodi. Penggunaan kelinci sebagai hewan coba terkait sistem imunitas karena mampu menghasilkan afinitas antibodi yang tinggi dan volume darah dengan jumlah banyak serta mudah dalam koleksi darahnya melalui vena telinga. Selain itu, kelinci banyak digunakan sebagai model untuk penyakit (*cardio-vascular*, hiperavitaminosis A, dll.) atau sistem *biologic* (tumor, kanker, dan lainnya) dan sebagai *sentinel* hewan uji produk.

Strains kelinci yang banyak dipakai dalam penelitian adalah *strains* kelinci putih atau New Zealand White (NZW) karena *strains* ini kurang agresif di alam dan memiliki lebih sedikit masalah kesehatan dibandingkan dengan jenis lainnya.

1. Karakteristik

Kelinci sebagai hewan coba mempunyai banyak kelebihan sebagai berikut: sangat jinak dan nonagresif sehingga mudah untuk ditangani dan diamati, mudah dikembangbiakkan dan

sangat ekonomis dibandingkan dengan memakai hewan yang lebih besar. Kelinci juga memiliki siklus vital pendek (bunting, menyusui, dan pubertas) dan termasuk kategori hewan rendah sehingga mudah untuk disetujui komite etika dibandingkan dengan menggunakan hewan kategori tinggi.

Eksistensi dasar kelinci adalah nokturnal sehingga sangat sensitif terhadap cahaya. Secara natural, kelinci hidup di liang dalam komunitas besar dan merupakan makhluk pemalu serta sensitif, istirahat siang hari dalam kegelapan bawah tanah dan mencari makan pada malam hari. Oleh karena itu, pencahayaan dalam ruang kandang harus diatur dengan siklus waktu 12 jam terang dan 12 jam gelap.

Kelinci membutuhkan suhu pemeliharaan yang lebih dingin dibandingkan dengan kebanyakan hewan coba lainnya yaitu berkisar antara 15-20°C (Puspani *et al.*, 2015). Sementara suhu tubuh kelinci berkisar antara 38,5-39,5°C tetapi telinga kelinci berfungsi sebagai termoregulator. Kelinci memiliki tingkah laku makan setiap saat sepanjang hari, sehingga perlu disediakan pakan *ad libitum* (selalu tersedia).

2. Sistem Pemeliharaan

Sistem pemeliharaan kelinci sangat penting untuk selalu memantau lingkungan tempat kelinci berada serta kondisi kelinci itu sendiri. Kelinci memiliki indra pendengaran dan penciuman yang tajam yang akan sangat mempengaruhi kelinci menjadi stres karena adanya suara dengan frekuensi tinggi seperti musik yang keras, suara anjing, maupun kebisingan kandang. Oleh karena itu sistem pemeliharaan kelinci tidak boleh dekat dengan mesin, seperti mesin ruangan kandang dan mesin.

a. Kandang kelinci

Sebaiknya kelinci dewasa dikandangkan secara terpisah antara pejantan karena memiliki sifat berkelahi dan saling menyerang.

Kelinci dewasa harus dikandangkan secara individual ($0,90 \times 0,60 \times 0,45$ m). Ketinggian kandang 0,8 cm dari tanah sehingga kotoran bisa jatuh ke dalam nampakan pengumpul (Calasans-Maia *et al.*, 2008). Kandang kelinci berukuran 9×5 m dapat menampung 15 ekor kelinci dengan berat kurang dari 4 kg atau 11 ekor kelinci dengan berat 4-5 kg.

Kebersihan kandang kelinci harus dijaga, alas kandang diganti tiga kali dalam seminggu atau dapat segera diganti jika alas kandang terendam air seni atau penuh dengan rambut/kotoran. Bagian bawah dinding kandang sebaiknya disemprot dengan deterjen/disinfektan jika terkena urin atau feses dan lantai kandang dibersihkan dengan *Quatricide-PV* (1,5 oz per 8 galon air) setiap hari.

Kelinci sangat toleran terhadap temperatur rendah. Temperatur ruangan di atas 30°C dengan kelembapan relatif yang tinggi, dapat menyebabkan stres pada kelinci yang mengakibatkan infertilitas dan kematian. Temperatur yang direkomendasikan untuk ruangan kandang kelinci berkisar $15\text{-}21^{\circ}\text{C}$ (Whary *et al.*, 1993) dengan kelembapan udara berkisar 45-65% (Batchelor, 1999). Ternak kelinci pada lingkungan tropis sebaiknya dipelihara pada dataran sedang sampai tinggi atau dalam ruangan *air conditioner* (AC).

Pertukaran udara dalam ruangan kandang juga harus diatur untuk mengurangi bau amoniak. Konsentrasi amoniak dalam ruangan harus lebih rendah dari 1-2 ppm dan tidak boleh melebihi 10 ppm (Batchelor, 1999).

Kandang kelinci sebaiknya dilengkapi dengan pengayaan antara lain tongkat untuk mengunyah, jerami kering yang digantungkan pada kandang, mainan, dan lainnya.

b. Pakan dan minum

Pemberian pakan dan minum pada hewan harus mencukupi untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang optimal dengan menyediakan air segar dan pengaturan nutrisi yang memadai. Pakan dan air minum harus disediakan secara *ad libitum* kecuali izin khusus telah diperoleh dari komisi etik hewan.

Kandungan gizi yang diperlukan dalam pakan kelinci antara lain protein (12-16%), karbohidrat (15-16%), dan lemak (2-5%) (Ograin, 2011). Kebutuhan pakan per hari kelinci sebanyak 120-200 gram/ekor/hari (pertumbuhan), 200-300 gram/ekor/hari (dewasa), 300 gram/ekor/hari (bunting), dan 300-400 gram/ekor /hari (menyusui).

Pakan kelinci berupa konsentrat yang diberikan sebanyak 400 gram per hari per ekor dan wortel dapat diberikan untuk pengayaan pakan. Pakan kelinci berupa *pellet* harus diberikan dalam jumlah sekitar 60-80 g/kg BB/hari, tergantung pada faktor-faktor seperti umur kelinci dan tujuan penelitian. Untuk variasi pakan kelinci, perlu dilengkapi dengan suplemen seperti buah dan sayuran, jagung, *barley*, gandum dan kacang kedelai (Morton *et al.*, 1993).

Pemberian air minum harus tersedia setiap saat (*ad libitum*). Pengecekan air minum yang ada di dalam botol selalu dilakukan dan diisi ulang jika air dalam botol kurang dari setengahnya. Disarankan untuk menyediakan lebih dari satu sumber pakan dan air minum untuk mengurangi kemungkinan kompetisi dan agresivitas kelinci (Love, 1994).

c. Pemberian nomor identitas kelinci

Identifikasi kelinci dalam kandang dapat dilakukan dengan pemberian warna pada bulu menggunakan zat warna *fuchsin*, *acriflavin* atau *gentian violet*, namun identifikasi ini harus diulang dengan interval tertentu. Spidol permanen *xylene* dapat juga digunakan di telinga dan bulu dan diulangi setiap tiga minggu (Morton *et al.*, 1993). Penggunaan tanda tersebut sangat efektif digunakan di bagian dalam telinga dengan warna yang berbeda. Pemakaian *microchip* dan *tattoo* telinga dapat digunakan untuk identifikasi kelinci secara permanen (Zutphen *et al.*, 1993) namun diaplikasikan pada kelinci umur enam minggu dalam kondisi teranestesi atau sedasi dan diberikan analgesia.

d. Karantina dan aklimatisasi

Kelinci baru yang akan masuk dalam fasilitas hewan harus dikarantinakan terlebih dahulu selama minimal dua minggu dan diperiksa bebas dari *pasteurellosis* (serologis, kultur), *scabiosis* (mikroskopis) dan *coccidiosis* (feses) (Harris *et al.*, 1995). Kelinci mudah terinfestasi *scabies* yang sangat menular dan dapat mengakibatkan gangguan saluran pernapasan sehingga *scabies* menjadi faktor predisposisi *pneumonia* (Schanaider *et al.*, 2004). Karantina juga berfungsi sebagai periode adaptasi terhadap lingkungan dan rutinitas sehari-hari. Pencahayaan kandang diberikan selama 12-14 jam pada bioritme koloni, konsumsi pakan dan karakteristik fesesnya harus diamati secara rutin (Podberscek *et al.*, 1991; Susan, 1991).

Pengamatan kelinci dilakukan setiap hari untuk melihat tanda-tanda penyakit, cedera atau kematian dan memeriksa kandang apakah terdapat cairan sekresi yang abnormal. Tanda-tanda klinis yang diamati meliputi: *alopecia* (kebotakan), diare, ptialisme/hipersalivasi (air liur berlebihan), anoreksia (turunnya

nafsu makan), penurunan berat badan, leleran hidung, leleran mata, gemetar dan perubahan perilaku atau tingkah laku. Jika terdeteksi adanya masalah kesehatan, lakukan identifikasi kandang hewan dan laporkan ke dokter hewan (*attending veteriner*). Jika kematian terdeteksi, tempatkan kelinci dalam kantong, segel, label, dan simpan dalam *freezer* untuk pemeriksaan lebih lanjut.

Kelinci juga perlu aklimatisasi untuk menstabilkan diri di lingkungan yang baru dan sekaligus untuk memenuhi aspek kesejahteraan hewan sehingga hasil penelitian menjadi lebih sahih. Periode aklimatisasi pada kelinci dilakukan minimal 72 jam (3 hari).

e. Penanganan dan pengendalian kelinci

Kelinci sangat rentan terhadap efek stres dan harus selalu didekati secara tenang dan percaya diri. Teknik penanganan dan *restrain* hewan yang baik dan benar dapat mengurangi tingkat stres pada kelinci. Kelinci jauh lebih mudah ditangani jika dilatih oleh petugas kandang yang terbiasa menanganinya. Kebanyakan hewan pengerat mencoba untuk menggigit ketika ditangani.

Teknik mengangkat kelinci dilakukan dengan cara menggerakkan tangan sepanjang punggung kelinci ke arah depan dan menggenggam secara perlahan pada kulit yang longgar yang menutupi bahu. Kemudian tahan tengkuk kelinci secara erat dengan satu tangan dan tangan satunya siap untuk mendukung bagian belakang hewan (Gambar 7). Jangan mengangkat kelinci pada telinga dan ekor.



Foto Koleksi KKHB, fotografer: April HW (2016)

Gambar 7. Cara Memegang Kelinci

Ketika mengangkat kelinci, tubuh bagian bawah harus didukung tangan. Jika kelinci berontak, maka tempatkan kelinci secara langsung pada permukaan yang padat. Kekerasan yang berkelanjutan dapat menyebabkan patah tulang pada *vertebra lumbalis* dan cedera fatal bagi sumsum tulang belakang. Untuk mengangkat kelinci, bawa kelinci dengan satu tangan memegang tengkuk dengan menempatkan kepala kelinci di bawah bagian atas lengan yang berlawanan (ketiak) (Gambar 8).



Foto Koleksi KKHB, fotografer: April HW (2016)

Gambar 8. Cara Mengangkat Kelinci

Cara lain untuk mengangkat kelinci adalah menggunakan handuk melilit tubuh kelinci dan sekaligus handuk dapat digunakan untuk menutupi wajah kelinci (Gambar 9). Untuk *restrain* kelinci dalam jangka lama seperti koleksi darah atau pemberian cairan infus, dapat menggunakan *restraint box*.



Foto Koleksi KKHB, fotografer: April HW (2016)

Gambar 9. Cara *Restrain* Kelinci Menggunakan Kain

Prosedur *restrain* kelinci dengan handuk dengan memegang punggung bagian bawah memakai satu tangan dan tangan lainnya ditempatkan beberapa *centimeter* di depan ekor. Letakkan kelinci pada handuk bersih atau permukaan yang kasar. Untuk mengembalikan kelinci ke kandang dengan menempatkan punggung terlebih dahulu untuk mencegah kelinci tidak melompat ke dalam kandang.

Perangkat dan prosedur *restrain* baik secara fisik maupun menggunakan bahan kimia harus dipertimbangkan jika berpotensi menimbulkan rasa sakit atau akan dilakukan dalam waktu lama. Kelinci termasuk hewan jinak, pemalu, dan cenderung mudah panik. Namun beberapa kelinci yang agresif akan menggigit dan dapat mencakar dengan kaki belakangnya. Oleh karena itu, perilaku kelinci perlu diamati terlebih dahulu sebelum membuka pintu kandang. Kelinci sangat rentan terhadap keseleo lumbar tulang belakang, yang dapat mengakibatkan kelumpuhan. Oleh karena itu, ketika menangani kelinci harus sangat hati-hati dan hindari melakukan gerakan tiba-tiba.

Restrainer dari berbagai ukuran, bentuk, dan desain tersedia untuk kelinci. Seperti dalam memilih *restrictor* tikus, pertimbangan harus diberikan untuk ukuran *restrictor* yang relatif sebanding dengan ukuran kelinci dan lamanya waktu yang digunakan kelinci dalam *restrictor* tersebut. *Restrainer* sangat berguna untuk melakukan injeksi intravena dan pengambilan sampel darah karena kedua tangan petugas dapat bebas untuk memegang dan memanipulasi jarum suntik.

Metode memasukkan kelinci ke dalam *restrictor* adalah dengan membuka semua bagian *restrictor* yang mudah diakses. Tahan kelinci dengan tangan dan tekan punggung kelinci di dalam *restrictor* terlebih dahulu dan kemudian tempatkan kepala dalam pembukaan leher (Gambar 9). Penyangga leher

dengan pasak diatur sehingga memungkinkan ruang selebar jari di antara kandang jepit dan leher kelinci. Kandang jepit bagian belakang dipasang kembali. Sebaiknya pantat kelinci ditekan kuat untuk mengamankan penyangga leher.



Foto Koleksi KKHB, fotografer: April HW (2016)

Gambar 10. Restrainer Kelinci

3. Koleksi Darah

Koleksi darah pada kelinci yang paling baik dilakukan pada arteri telinga tengah menggunakan jarum atau kateter kupukupu. Sebanyak 30-40 ml darah dapat dikumpulkan dengan cara ini. Volume darah total kelinci NZW diperkirakan sekitar 6% (kisaran: 5-8%) dari berat badan, sehingga darah dapat dikoleksi dengan aman sampai 2% dari berat badan (25-33% dari volume darah). Periode pemulihan setelah koleksi darah berkisar 14-21 hari. Untuk sampling darah dengan jumlah lebih kecil dan berulang, volume darah yang dapat dikoleksi dari kelinci NZW dengan berat badan rata-rata 3,5-4,0 kg adalah

20 ml setiap 24 jam tanpa menyebabkan kelemahan dan prosedur ini bisa dilanjutkan sampai terlihat anemia yang didefinisikan sebagai nilai hematokrit kurang dari 36%. Tingkat anemia kelinci bervariasi maka sangat penting dilakukan pengukuran hematokrit setiap dilakukan koleksi darah.

Jumlah maksimum darah yang dapat dikoleksi agar hewan bertahan hidup adalah 15% dari volume darah yang beredar. Sebagai contoh, total darah untuk kelinci 60 ml/kg berat badan maka 15% dari total volume darah adalah 9 ml/kg berat badan. Pengambilan darah dengan jumlah tersebut tidak dapat dilakukan setiap minggu karena perlu waktu pemulihan berkisar 14-21 hari.

Jika melakukan pengambilan darah dengan volume yang besar, perlu dilakukan pengukuran *packed cell volume* (PCV) setiap kali pengambilan. Jika PCV turun di bawah 35%, koleksi darah harus dikurangi dan perlu diberikan cairan pengganti (infus *ringer* laktat). Penggunaan obat penenang droperidol-fentanil dapat menyebabkan pelebaran arteri, menenangkan kelinci, dan membuat koleksi darah lebih mudah.

Lokasi koleksi darah pada kelinci dapat dilakukan pada jantung, vena, dan arteri telinga dengan menggunakan jarum dengan ukuran yang sesuai (Tabel 11).

Tabel 11. Lokasi untuk Koleksi Darah, Ukuran Jarum dan Volume pada Kelinci

Lokasi	Volume	Ukuran jarum
Jantung	50-80 ml	1-1/2 inci, 18G
Vena telinga tepi	1-3 ml	1 inci, 22G
Arteri telinga tepi	30-50 ml	1 inci, 23G

Koleksi darah melalui jantung (*intracardial*) sangat berbahaya karena dapat menimbulkan pendarahan dan harus dilakukan

di bawah anestesi umum. Metode ini hanya diterapkan untuk kondisi terminal dan bukan merupakan teknik koleksi darah rutin atau berulang.

a. Koleksi darah dari arteri telinga

1. Sebelum dilakukan koleksi darah, *restrain* kelinci direkomendasikan dibantu dengan pemberian sedasi dengan anestesi topikal. Anestesi dengan acepromazine (0,2-1 mg/kg) dapat diberikan secara subkutan dan anestesi *lidocaine* 2% secara *topical*, dilakukan 5-10 menit sebelum pengumpulan darah untuk menginduksi vasodilatasi.
2. Lokasi arteri sentral pada permukaan dorsal telinga untuk memvisualisasikan pembuluh darah dapat dilakukan dengan menjepit telinga luar.
3. Telinga dibersihkan lebih dahulu dengan alkohol 70%. Koleksi darah dengan volume yang lebih kecil dapat dilakukan dari vena (pembuluh lateral), namun jika volume darah yang dibutuhkan lebih banyak sebaiknya dikoleksi dari arteri.
4. Ukuran jarum yang dipakai 19-23G atau yang lebih kecil (baik jarum suntik atau jarum kupu-kupu).
5. Darah dikoleksi secara perlahan untuk menjaga telinga tetap tegak. Jika koleksi darah dilakukan dari vena maka tekan vena di bagian dasar telinga, sedangkan jika dilakukan dari arteri harus dipastikan untuk tidak menutup jalan arteri.
6. Posisi jarum yang dimasukkan ke dalam pembuluh darah pada sudut 20° atau kurang. Setelah jarum berada di dalam pembuluh, turunkan sudut jarum dengan hati-hati

sehingga hampir sejajar dengan pembuluh darah dan darah dapat disedot dengan perlahan.

7. Ketika sampel darah telah dikumpulkan, perlahan-lahan tarik jarum pada sudut yang sama seperti sewaktu memasukkan jarum.
 8. Tekan bagian atas arteri selama 3 menit untuk memberikan hemostasis.
 9. Darah kelinci yang dapat dikoleksi sampai maksimal 8 kali dalam 24 jam dengan volume sekali koleksi adalah 0,5-10 ml.
- b. Koleksi darah *intracardial*

Koleksi darah melalui *intracardial* (*cardiac puncture*) dilakukan untuk mendapatkan sampel darah dengan jumlah besar dengan kualitas yang baik (60-200 ml) dalam kondisi kelinci dianestesi. Koleksi darah dapat dilakukan melalui sisi kiri dada, diafragma, bagian atas *sternum*, atau torakotomi.

Prosedur koleksi darah melalui *sternum* sebagai berikut:

- a. Kelinci dianestesi terlebih dahulu dengan *xylazin* (7-10 mg/kg berat badan) kemudian ketamin (40-50 mg/kg berat badan) secara intramuskuler.
- b. Kelinci diletakkan dengan posisi telentang.
- c. Bersihkan area dada dengan alkohol 70% dan injeksikan jarum pada dasar *sternum* (bawah *xiphoid*) dengan sudut kemiringan 30-45° pada sisi kiri.
- d. Ukuran jarum yang digunakan 19-21G.
- e. Darah ditarik secara perlahan dengan jarum suntik sampai volume yang diinginkan dan ganti tabung jika diperlukan. Koleksi darah dilakukan sampai tidak ada darah lagi yang dapat diaspirasi. Kematian kelinci terjadi akibat eksanguinasi.

- f. Verifikasi apakah jantung kelinci benar-benar telah berhenti dan apabila masih bernapas, eutanasi dengan barbiturat 100 mg/ml *intracardial*.
- g. Tunggu sampai 15 menit dan yakinkan kelinci benar-benar sudah mati.

4. Administrasi Cairan dan Obat

Ketika obat-obatan, vaksin, obat bius suntik, atau agen lainnya harus diberikan, beberapa rute pemberian yang berbeda dapat dipilih berdasarkan sifat dari agen, spesies hewan, tujuan administrasi, dan faktor lainnya.

a. Saluran *gastro-intestinal*:

- a. Oral atau per os (PO) – melalui mulut
- b. *Gavage* – ke dalam perut melalui tabung

Prosedur *oral gavage* pada kelinci:

1. Gunakan 6-8 tabung *gavage* yang sesuai untuk ukuran kelinci.
2. Tabung diukur dengan panjang yang tepat dari ujung hidung ke rusuk terakhir dan ditandai.
3. Kelinci ditangani dalam kotak *restrainer*.
4. Tabung dilumasi dengan pelumas steril dan dimasukkan ke dalam rongga hidung sampai tabung masuk secara mulus. Jika ada hambatan apapun, dicoba lagi.
5. Periksa penempatan tabung secara tepat dengan cara menempatkan ujung luar dari tabung dalam mangkuk air dan konfirmasikan bahwa tidak ada gelembung udara. Suntikkan air (2 ml) dan aspirasi untuk

memverifikasi isi perut kelinci di mana cairan akan berwarna cokelat-kehijauan.

6. Suntikkan secara perlahan cairan dengan volume maksimal (10 ml/kg berat badan).
7. Jepit ujung tabung sebelum dilepaskan untuk mencegah isi perut mengalir ke daerah oral-faring.

Hewan dipantau untuk melihat tanda-tanda tertekan seperti terengah-engah atau berbusa di mulut dan jika terlihat tanda-tanda tersebut maka hewan harus dieutanasia sesegera mungkin.

b. Parenteral:

1. *Intravena (IV) - langsung dalam sistem vascular melalui pembuluh darah*

Jarum suntik yang digunakan ukuran 22-25 G atau kateter kupu-kupu yang memiliki panjang yang sesuai dengan jarum suntik dan diperlukan *restrain* kelinci dari bahan plastik atau logam. Vena telinga marginal digunakan secara eksklusif untuk administrasi agen. Bulu di atas vena dicabut dan kulit dibersihkan dengan alkohol 70%. Vena dapat digembungkan/distensi dengan menjentikkan jari beberapa kali. Memegang vena dekat pangkal telinga dapat membantu distensi. Prosedur injeksi intravena (marginal telinga vena):

1. Bulu pada ujung telinga dijepit untuk membantu visualisasi area dan dibersihkan dengan alkohol 70%.
2. Pembuluh darah dibendung dengan menekan dengan lembut pada dasar telinga.
3. Ukuran jarum suntik yang digunakan tidak lebih besar dari 23 G dan dimasukkan dengan sudut kemiringan sekitar 20°.

4. Tarik *plunger* untuk memverifikasi bahwa tidak ada darah yang tersedot sebelum membuat injeksi. Volume yang diinjeksikan tidak lebih dari 8 ml untuk injeksi *bolus* (2 ml per kg BB) atau 40 ml untuk infus lambat (10 ml per kg BB).
5. Tarik jarum secara perlahan-lahan dan tekan area tempat suntikan sampai pendarahan menghilang.
6. Untuk suntikan berulang atau dalam volume besar, gunakan kateter.

2. *Intramuskuler (IM) – disuntikkan ke otot*

Jarum suntik yang digunakan ukuran 22-23 G, dengan panjang 2,5 cm. Area yang paling sering digunakan adalah otot punggung lateral ke vertebra dan ekor, atau otot-otot paha lateral. Volume tidak boleh melebihi 0,25 ml per area jika menggunakan kombinasi *adjuvant* dan antigen. Jika dilakukan suntikan berulang, maka harus dibuat pada beberapa area dan *restrain* kelinci sangatlah penting. Prosedur suntikan intramuskuler pada kelinci:

- a. Kelinci di-*restrain* kemudian kaki belakang ditekuk ke arah tubuh dan suntikan diberikan di bagian depan paha belakang atau pada otot lumbal di samping tulang belakang tepat di atas panggul.
- b. Jarum suntik yang digunakan tidak lebih besar dari 25 G dan panjang 0,5-1 inci. Suntikan jarum secara tegak lurus pada kulit, langsung ke otot dengan kedalaman 7-10 mm.
- c. Tarik *plunger* untuk memverifikasi bahwa tidak ada darah yang tersedot sebelum membuat injeksi. Untuk kelinci yang memiliki berat rata-rata 4 kg, tidak diperbolehkan untuk menyuntikkan lebih dari 1 ml per area (0,25 ml per kg BB) atau total 2 ml (0,5 ml per kg BB).

- d. Tarik jarum secara perlahan-lahan dan tekan pada tempat suntikan sampai pendarahan menghilang.

3. *Subkutan (SC) – disuntikkan ke bawah kulit*

Jarum suntik yang digunakan ukuran 20-23 G, dan panjang 2,5 cm. Area suntikan yang paling sering digunakan di antara tulang belikat. Volume tidak boleh melebihi 0,25 ml per area untuk kombinasi *adjuvant* dan antigen. Prosedur injeksi subkutan (non-*adjuvant*):

- a. Gunakan jarum dengan ukuran yang paling kecil jika memungkinkan dan tidak lebih besar dari 21 G.
- b. Tarik *plunger* untuk memverifikasi bahwa tidak ada darah yang disedot sebelum membuat injeksi.
- c. Volume cairan yang disuntikkan pada satu area adalah 4 ml untuk kelinci dengan berat rata-rata 4 kg BB (1 ml per kg BB). Jika volume cairan akan diberikan secara suntikan di dua area, maka dilakukan di sepanjang belakang punggung dengan total suntikan tidak lebih dari 8 ml (2 ml per kg).

4. *Intradermal - penyuntikan di antara lapisan kulit*

Jarum suntik yang digunakan ukuran 25-26 G dan panjang 2,5 cm. Area suntikan yang paling sering digunakan adalah di atas punggung yang telah dicukur. Volume tidak boleh melebihi 0,05 ml per area untuk *adjuvant* dan antigen kombinasi. Area injeksi harus berjarak 3-4 cm satu sama lain untuk mencegah pertemuan. Prosedur suntikan intradermal pada kelinci (non-*adjuvant*)

- a. Kelinci dianestesi atau ditangani dalam *restrainer* dan suntikan dilakukan pada bagian dorsal ekor toraks atau daerah lumbal.

- b. Area yang akan disuntik dicukur dan dibersihkan dengan alkohol 70%.
- c. Volume cairan yang disuntikkan maksimal 100 µl per area (dianjurkan 50 µl).
- d. Jarum dimasukkan di bawah kulit pada sudut sekitar 15-20°.
- e. Teknik ini akan menyebabkan perdarahan minimal.
- f. Suntikan pada area ini dapat digunakan sampai dengan 10 kali injeksi.

5. Anestesi

Anestesi adalah ketidakpekaan rasa sakit tanpa kehilangan kesadaran yang melibatkan depresi reseptor otak serta pusat-pusat otak. Berbagai obat memiliki sifat anestesi bila diberikan dalam dosis yang tepat. Beberapa kategori obat tidak menghasilkan anestesi. Beberapa daftar istilah yang umum digunakan.

Tabel 12. Anestesi yang Digunakan pada Kelinci

Anestesi	Dosis & rute/komentar
<i>Ketamine + Xylazin</i>	44 mg/kg + 5 mg/kg SC atau IM. SC adalah rute yang disarankan untuk administrasi <i>xylazin</i> dapat diganti dengan 0,2mg/kg <i>yohimbine</i> SC atau IV
<i>Ketamine + Dexmedetomidine</i>	15-25mg/kg + 0,05-0,1mg/kg SC <i>Dexmedetomidine</i> dapat dibalik dengan 0,2mg/kg <i>atipamezole</i> SC atau IV
<i>Acepromazine</i>	0,25-0,75 mg/kg IM untuk koleksi darah dari arteri telinga tengah
<i>Isoflurane</i>	1-3 % untuk efek analgesik kelinci

Anestesi	Dosis & rute/komentar
<i>Buprenorphine (Buprenex)</i>	0,01-0,05 mg/kg SC setiap 6-12 jam
<i>Flumixin (Banamine)</i>	1-2 mg/kg SC setiap 12-24 jam
<i>Meloxicam (Metacam)</i>	0,2 mg/kg SC atau 0,3 mg/kg PO sekali dalam sehari

6. Analgesia

Analgesia diberikan pada kelinci untuk meminimalkan rasa sakit atau penderitaan yang dialami oleh kelinci selama prosedur *invasive* diberikan dalam mengurangi tingkat stres yang dapat menyebabkan dampak pada hasil penelitian. Analgesia perlu diberikan terutama pada prosedur pascabedah. Pada kondisi ini, perlu diberikan analgesia yang memadai untuk mengurangi rasa sakit pascaoperasi akut.

Ada beberapa macam *analgesic* yang digunakan pada kelinci dengan beberapa pertimbangan: berikan *analgesic* dengan dosis yang tepat, berikan pada interval waktu yang tepat, hentikan pemberian *analgesic* setelah operasi. Agen analgesia yang direkomendasikan pada kelinci dan umumnya berhasil dengan baik tercantum pada Tabel 13.

Tabel 13. Rekomendasi Jenis Analgesik pada Kelinci (Coulter *et al.* 2011)

Kelas analgesik	Jenis	Dosis dan rute
Opioid	Buprenorphine	0,01-0,05 mg/kg SC/IV 6- 12 jam
	Butorphanol	0,1-0,5 mg/kg IV 4 jam
NSAID	Carprofen	4 mg/kg SC; 1,5 mg/kg PO
	Meloxicam	0,6-1 mg/kg SC/PO

*NSAID: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug

7. Antibiotik

Beberapa antibiotik dapat memengaruhi *microflora* usus dan membunuh bakteri yang menguntungkan sehingga memungkinkan bakteri patogen menjadi tidak terkendali atau tumbuh berlebihan. Oleh karena itu, pilihan antibiotik dan rute pemberian merupakan faktor penting yang harus dipertimbangkan pada saat pemberian antibiotik pada kelinci.

Rekomendasi dosis beberapa jenis antibiotik yang aman untuk kelinci seperti tercantum pada Tabel 14.

Tabel 14. Dosis Antibiotik untuk Kelinci

Jenis antibiotik	Dosis
Enrofloxacin	5 mg/kg PO 2× sehari; 10 mg/kg SC 1× sehari
Gentamisin	1-2 drop PO 3× sehari, selama 5-7 hari
Trimethoprime, sulphametoxazol	20-30 mg/kg PO 2× sehari
Oxytetrasiklin	15 mg/kg SC/IM 1× sehari
Penicillin	g/kg SC 1× sehari

8. Eutanasia

Eutanasia dapat dicapai dengan mudah, tanpa rasa sakit, dan tanpa stres (Bloebaum *et al.* 1991). Teknik ini melibatkan sedatif diikuti suntikan barbiturat. Sodium pentobarbital merupakan obat pilihan karena bertindak cepat dan efektif (Calasans-Maia *et al.*, 2008).

Agen eutanasia dapat langsung atau tidak langsung menyebabkan hipoksia, depresi neuron penting, atau kerusakan fisik jaringan otak. Sangat penting untuk menginduksi ketidak sadaran secepat mungkin. Kriteria yang harus dipertimbangkan dalam merekomendasikan metode eutanasia

meliputi: waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan ketidaksadaran, waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan kematian, tujuan, hasil penelitian dan sesuai dengan pedoman AVMA pada eutanasia. Dosis eutanasia *sodium pentobarbital* pada kelinci adalah 100 mg/kg secara intravena atau dengan cara perfusi jantung atau eksanguinasi di bawah kondisi anestesi.

Metode eutanasia pada kelinci harus menggunakan metode standar yang disetujui secara internasional (AVMA, 2020). Dampak negatif dari eutanasia kelinci pada kesehatan mental para pengasuh hewan, personel penelitian, dan dokter hewan tidak boleh dianggap remeh. Rotasi personel yang melakukan nekropsi, merencanakan eutanasia, dan memberikan kesempatan untuk mendiskusikan perasaan yang terkait dengan prosedur dapat membantu dalam mengurangi perasaan tidak nyaman terkait prosedur eutanasia. Metode eutanasia yang dapat dipakai pada kelinci sesuai pada Tabel 15.

Tabel 15. Metode Eutanasia pada Kelinci

Metode	Dosis/ berat badan
<i>Barbiturate overdosis</i>	100 mg/kg IV/IP
KCl	1-2 meq/kg IV
<i>Decapitasi</i>	BB< 150 g
<i>Cervical dislocation</i>	BB < 200 g
CO ₂	50-60% volume chamber/menit

D. Marmot

Marmot banyak digunakan dalam penelitian medis disebabkan marmot juga memiliki banyak kesamaan biologis dengan manusia dan telah digunakan sebagai hewan percobaan

selama berabad-abad untuk subjek percobaan manusia. Pada tahun 2012, dilaporkan sebanyak 13.000 eksperimen ilmiah di Inggris menggunakan marmot, namun kurang dari 1% dari total penelitian yang menggunakan hewan coba. Sebagai hewan coba, marmot memainkan peranan penting dalam berbagai penelitian toksikologi, studi penyakit alergi, penyakit paru noninfeksi, gangguan reproduksi, osteoartritis dan aterosklerosis. Marmot juga digunakan secara rutin untuk mempelajari berbagai infeksi yang disebabkan bakteri, virus, dan jamur. Strains marmot yang paling umum digunakan dalam penelitian saat ini adalah *the Hartley albino*.

1. Karakteristik

Marmot memiliki karakteristik tubuh yang sangat khas dengan tubuh kecil, kekar, tanpa ekor, dan kepala besar serta mata besar dan selalu waspada. Kaki marmot pendek dengan empat jari di kaki depan dan tiga jari di kaki belakang. Semua jari kaki mempunyai cakar tajam yang dapat membantu untuk mengais dan menggali di alam liar. Marmot memiliki indra pendengaran dan penciuman yang tajam serta kumis yang panjang yang menyebabkan kesadaran yang tinggi akan perubahan di sekitarnya, sehingga marmot dapat mendeteksi pemangsa dengan lebih efektif.

Marmot adalah hewan diurnal yang paling aktif saat fajar dan senja. Marmot hidup berkelompok sekitar 10 ekor per kelompok. Marmot berkomunikasi satu dengan lainnya menggunakan berbagai macam suara mencicit yang menunjukkan kegembiraan atau suatu peringatan akan bahaya yang mendekat. Komunikasi juga dilakukan melalui penciuman serta bau yang dikeluarkan dari kelenjar tubuhnya.

2. Sistem Pemeliharaan

Sistem pemeliharaan marmot sangat penting untuk diperhatikan dengan memantau lingkungan dan kondisi marmot. Mamot memiliki indra pendengaran dan penciuman yang tajam sehingga mudah stres oleh suara dengan frekuensi tinggi seperti musik yang keras, suara anjing, kebisingan kandang. Oleh karena itu, sistem pemeliharaan marmot tidak boleh dekat dengan mesin, seperti mesin ruangan kandang dan mesin.

a. Sistem perkandungan

Marmot adalah hewan sosial dan lebih memilih untuk hidup dalam kelompok 5-10 hewan sehingga untuk perawatan dalam kandang marmot harus ditempatkan dalam kelompok yang berpasangan. Untuk pembibitan marmot dapat dibuat kelompok 3-10 jantan dan 15-30 betina. Penyapihan dilakukan pada umur 2-3 minggu, dan umumnya marmot muda dapat memakan makanan padat dan air dalam beberapa hari setelah lahir. Marmot betina dewasa kelamin pada umur 4 minggu. Lama kebuntingan adalah berkisar 59-73 hari dengan ukuran *litter* rata-rata 1-4 tetapi dapat mencapai 7 atau lebih.

Marmot merupakan hewan pemalu dan makhluk sosial tetapi sangat lambat untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan serta tidak memiliki kemampuan untuk melompat atau memanjat sehingga dapat ditempatkan pada kandang berdinding relatif rendah dan terbuka di bagian atasnya. Rekomendasi ruang kandang untuk marmot adalah 69,7 cm² 2021 dengan tinggi kandang 30 cm untuk satu ekor marmot (Anonymous, 2021). Untuk menghindari perilaku alami seperti berebutan maka sediakan tempat terlindung atau tempat

persembunyian dan jauhkan marmot dari gangguan kebisingan secara tiba-tiba.

Kandang marmot perlu diberi alas rumput kering atau jerami karena marmot di dalam kandang senang menggali dan bersembunyi di bawahnya (Scharmann 1991). Menurut Kawakami (2003) untuk beristirahat marmot menggunakan serutan kayu untuk alas tidur (*bedding*), sedangkan pada kondisi gelap lebih menyukai *bedding* dari lembaran-lembaran kertas.

Umumnya marmot lebih mampu beradaptasi terhadap udara dingin daripada udara panas. Suhu ruangan kandang direkomendasikan berkisar 18-26°C. Tingkat reproduksi marmot akan menurun secara signifikan jika suhu ruangan lebih dari 25°C untuk jangka waktu yang lama. Induk marmot yang bunting rentan terhadap panas dan mudah stres pada suhu yang lebih tinggi ($>30^{\circ}\text{C}$) dan kelangsungan hidup marmot yang dilahirkan juga akan menurun pada suhu 17°C. Kelembapan relatif yang disarankan untuk marmot 40-70% untuk mencegah gangguan pernapasan. Marmot membutuhkan pencahayaan selama 12-16 jam menggunakan lampu (*artificial light*).

b. Pakan dan minum

Marmot merupakan hewan herbivor (pemakan hijauan). Marmot memerlukan tambahan suplemen vitamin C dalam pakan dari segala usia untuk mencegah penyakit kulit atau kekurangan vitamin C. Kebutuhan vitamin C pada marmot setiap hari adalah 10 mg/kg berat badan untuk pemeliharaan, sedangkan ketika bunting kebutuhan vitamin C adalah 30 mg/kg berat badan. Vitamin C dapat pula ditambahkan dalam air minum (1 gram/liter) dan disiapkan segar setiap hari. Perlu

diingat bahwa jangan memberikan pakan *pellet* kelinci ke marmot karena kandungan vitamin C tinggi dan selain itu kadang kala mengandung antibiotik yang bersifat toksik untuk marmot. Selain itu, jangan memberikan marmot pakan yang berasal dari produk susu dan turunannya.

Pakan marmot harus memenuhi persyaratan diet dengan kadar serat kasar tinggi (16%) dan kandungan protein minimal 20%. Pemberian sayuran segar juga dapat digunakan untuk menyediakan asupan vitamin C namun harus dicuci sebelum diberikan. Marmot yang digunakan sebagai hewan coba rentan terhadap anoreksia selama penelitian sehingga pakannya harus diperhatikan. Penggunaan *mash pellet* dicampur dengan air untuk membantu mengatasi anoreksia dan dapat merangsang nafsu makan kembali.

Marmot membutuhkan air minum setiap hari walaupun sudah diberikan pakan tambahan seperti wortel atau apel. Banyaknya air minum yang dibutuhkan marmot adalah 6 ml/gram diet. Namun, ketika marmot makan jerami dan rumput maka jumlah air minum yang dibutuhkan adalah 2-3 ml/gram diet.

c. Pemberian nomor identitas

Identifikasi marmot dalam kandang dapat dilakukan dengan pemberian warna pada bulu menggunakan zat warna *fuchsin*, *acriflavine*, atau gentian violet, namun identifikasi ini harus diulang dengan interval tertentu. *Tattoo* dan *microchip* dapat digunakan sebagai nomor identitas marmot (Anonymous, 2006). Nilon dapat juga digunakan sebagai identifikasi pada marmot (Kitagaki, 2004). Penggunaan tanda tersebut sangat efektif digunakan di bagian dalam telinga dengan warna yang berbeda. Pemakaian *microchip* dan *tattoo* telinga dapat

digunakan untuk identifikasi marmot secara permanen (Zutphen *et al.*, 1993) namun diaplikasikan pada marmot umur 6 minggu dalam kondisi teranestesi atau sedasi dan diberikan analgesia.

d. Karantina dan aklimatisasi

Marmot yang baru datang dimasukkan ke dalam kelompok kandang dan menjalani karantina selama 2-3 minggu. Disinfeksi kandang perlu dilakukan sebelum hewan masuk dalam kandang.

Selama karantina perlu dilakukan observasi terhadap kemungkinan penyakit. Pemberian vitamin disarankan diberikan pada awal kedatangan untuk mencegah stres. Ketika selesai menangani marmot baru, tangan dan lengan dicuci dengan baik dan baju diganti untuk menjamin marmot baru tidak menularkan penyakit atau parasit ke marmot yang lain.

e. Penanganan dan pengendalian marmot

Marmot adalah hewan lembut dengan tulang relatif rapuh dan memiliki kecenderungan untuk melompat terutama ketika dimasukkan ke kandang yang berakibat patah tulang, cedera, dan kadang-kadang kematian, sehingga sangat penting untuk belajar bagaimana mengangkat dan membawa marmot secara aman. Untuk *restrain* marmot harus dilakukan secara cepat dan halus supaya hewan tidak menjadi takut dan stres. Ibu jari ditempatkan di bawah rahang marmot dan bagian belakang marmot didukung oleh tangan lainnya (Gambar 11).



Foto Koleksi KKHB, fotografer: April HW (2016)

Gambar 11. Cara mengangkat marmot dengan kedua tangan

Marmot diangkat menggunakan satu tangan yang ditempatkan di sekitar dada marmot secara perlahan, lembut dan dengan hati-hati jangan sampai menekan tulang rusuk. Ibu jari tangan ditempatkan di bawah kaki depan, sementara jari lainnya digunakan untuk menahan kaki depan. Tangan satunya lagi ditempatkan di bawah hewan untuk stabilitas. Angkat bawah pantat hewan dengan tangan kedua untuk mendukung marmot sepenuhnya.

Restrain marmot sangat mudah dilakukan. Meskipun marmot tidak menggigit namun marmot yang muda mungkin menggigit dan ketika dilakukan *restrain* bisa mengeluarkan

suara keras. Marmot dipegang menggunakan handuk dengan membungkus badannya, sementara kepala tidak terbungkus agar mudah pada saat dilakukan pemeriksaan kepala dan mulut.

3. Koleksi Darah

Anatomi marmot sedikit berbeda dari hewan rodensia lainnya, sehingga teknik koleksi darah yang dilakukan akan berbeda caranya jika dibandingkan dengan tikus dan mencit. Koleksi darah yang dilakukan secara berulang memerlukan teknik yang baik untuk mengurangi stres dan ketidaknyamanan pada hewan, menjamin kelangsungan hidup serta memenuhi persyaratan ukuran sampel dan aksesibilitas.

Koleksi darah pada marmot dapat dilakukan dari *arteri femoralis*, *vena cava anterior*, *vena saphena* dan *cardiac puncture* (Banks, 1989). Masing-masing teknik tersebut mempunyai kelebihan dan kekurangan (Hem *et al.*, 1998; Parasuraman *et al.*, 2010). Banyaknya volume darah yang dikoleksi dari marmot meskipun ada perbedaan spesies-spesifik, namun sebagai aturan umum volume darah perkiraan yang dapat dikoleksi adalah di kisaran 6-8% dari berat badan (yaitu, 60-80 ml/kg), sekitar 75 ml/kg berat badan (USDA, 2013).

Koleksi darah pada marmot dapat dilakukan dalam keadaan sadar atau di bawah kondisi anestesi. Koleksi darah nonterminasi pada marmot dapat dilakukan jika volume darah yang dikoleksi tidak melebihi pedoman untuk koleksi darah (Guillen, 2012). Teknik koleksi darah pada marmot nonterminasi dan terminasi pada Tabel 16.

Tabel 16. Koleksi darah marmot non terminasi dan terminasi

Lokasi koleksi darah	Keterangan
Non-terminasi	
Vena telinga <i>marginal</i>	Tidak perlu anestesi, volume kecil (<5cc)
Vena <i>saphena</i> lateral	Tidak perlu anestesi, volume kecil (<5cc), dapat berulang
Vena <i>cephalica & tarsal</i>	Tidak perlu anestesi, volume kecil (<5cc), dapat berulang
Vena <i>jugularis</i>	Perlu anestesi , volume besar (>5cc)
Vena <i>cava cranialis</i>	Perlu anestesi , volume besar (>5cc)
Vena <i>femoralis</i>	Perlu anestesi , volume besar (>5cc)
Terminasi	
Cardiac puncture	Perlu anestesi , volume maksimum
Vena <i>cava caudal</i> atau aorta	Perlu anestesi , volume maksimum, perlu pembedahan (laparatomii)
Dekapitasi	Perlu anestesi , volume maksimum

Sumber: Huneke (2012)

a. Kanulasi pembuluh darah

Koleksi darah menggunakan kanul dilakukan secara aseptik dengan jarum ukuran 23-25 G. Banyaknya volume darah yang dapat dikoleksi 0,1-0,5 ml per koleksi, namun tergantung pula pada justifikasi ilmiah. Darah dapat dikoleksi hingga enam kali pengambilan selama periode dua jam. Setelah koleksi darah dilakukan, kanul harus dibilas dengan *saline* steril dengan penambahan antikoagulan untuk mencegah pembekuan darah. Untuk mencegah darah mengalir kembali maka dipasang pin yang dimasukkan ke dalam ujung luar kanula. Koleksi darah

yang dilakukan secara serangkaian, maka untuk menghindari pembilasan kanul dapat ditambahkan larutan *locking* steril.

b. Koleksi darah dari vena *saphena*

Metode koleksi darah dari vena *saphena* lateral relatif cepat pada semua *strains* marmot. Koleksi darah dari vena *saphena* dilakukan dengan menarik kaki belakang marmot dengan cara ditekan secara lembut ke bawah tepat di atas sendi lutut sehingga kulit di atas pergelangan kaki akan terentang sehingga lebih mudah untuk mencukur dan mencari vena *saphena*-nya.

Teknik aseptik harus digunakan, namun tidak diperlukan anestesi. Anestesi bisa diberikan pada marmot dengan alasan kesejahteraan hewan dan sebagai penenang, namun dosis obat yang diberikan harus rendah untuk menghindari pendarahan berkepanjangan dari area tusukan karena agen anestesi mengandung vasodilator. Penambahan krim anestesi topikal dapat pula diterapkan di area suntikan 30 menit sebelum pengambilan sampel darah. Ukuran jarum yang digunakan adalah 23 G. Setelah koleksi darah selesai dilakukan, tekan area tusukan dengan jari atau lakukan relaksasi sederhana di kaki hewan. Hewan tidak boleh dikembalikan ke kandang sebelum aliran darah telah benar-benar berhenti.

Banyaknya volume darah yang dikoleksi tidak boleh melebihi empat kali pengambilan dalam rentang waktu 24 jam dan harus dengan justifikasi ilmiah. Jika darah yang dibutuhkan banyak, dapat dilakukan dengan prosedur kanulasi. Volume darah yang dapat dikoleksi sebanyak 0,5% dari berat badan hewan dan dapat diulang pada interval dua minggu tanpa menganggu status hematologi. Banyaknya volume darah yang dapat dikoleksi setiap hari adalah sebesar 0,05% dari berat badan.

c. Koleksi darah dari *cardiac puncture*

Cardiac puncture (tusuk jantung) adalah teknik koleksi darah yang cocok pada semua *strain* marmot untuk mendapatkan darah dalam volume besar dan tujuan akhir eutanasia atau di bawah kondisi anestesi. Darah yang dapat diperoleh dari seekor marmot sebanyak ±25 ml, namun tergantung pula dengan ukuran tubuh marmot. Ukuran jarum yang digunakan untuk *cardiac puncture* adalah 20-21 G pada jantung bagian ventrikel, baik melalui torakotomi atau sisi kiri dada. Darah harus ditarik secara perlahan untuk mencegah ruptur jantung.

d. Koleksi darah dari pembuluh darah perut/dada

Teknik koleksi darah dari pembuluh darah perut/dada paling sesuai untuk semua *strain* marmot untuk mendapatkan sampel darah dalam jumlah banyak dengan kualitas yang baik melalui sekali pengambilan. Marmot harus dalam kondisi eutanasia atau di bawah anestesi sebelum terminasi. Banyaknya volume darah yang dapat dikoleksi sekitar 10-15 ml, namun juga tergantung pada ukuran dari marmot. Tusukan pada jantung tidak dilakukan dengan teknik ini sehingga jantung tidak mengalami kerusakan dan dapat digunakan kembali bilamana perlu.

Darah dikumpulkan baik melalui *aorta abdominal*, *aorta caudal* atau *dorsal* atau *vena cava* dengan menggunakan jarum ukuran 19-21 G melalui laparotomi atau torakotomi. Darah harus ditarik secara perlahan untuk mencegah pembuluh darah runtuh. Anestesi bedah diperlukan kecuali jika marmot sudah mati.

e. Koleksi darah dengan dekapitasi

Alasan utama untuk melaksanakan koleksi darah dengan teknik dekapitasi adalah untuk mendapatkan volume darah dalam jumlah besar (10-20 ml) dan tidak dipengaruhi oleh obat bius atau karbon dioksida. Teknik ini cocok untuk semua jenis marmot, dan hanya boleh digunakan dalam keadaan tertentu dengan justifikasi ilmiah. Animals Scientific Procedures Act (ASPA) membatasi penggunaan teknik ini hanya untuk rodensia dengan berat badan 1 kg atau kurang, dan hewan harus dinyatakan mati sebelum dilakukan dekapitasi.

4. Administrasi Cairan dan Obat

Pemberian antibiotik seperti penisilin, ampisilin (amoksisilin), *bacitracin*, eritromisin, spiramisin, streptomisin, *lincomycin*, klindamisin, vankomisin, dan tetrasiklin pada marmot dilaporkan dapat menyebabkan *enterotoxemia*. Antibiotik topikal juga dapat menyebabkan *enterotoxemia* fatal pada marmot. Secara keseluruhan, hindari antibiotik dengan antibakteria spektrum rendah (hanya terhadap bakteri gram-positif). Penyebab kematian pada marmot adalah penurunan bakteri gram-positif dan peningkatan bakteri gram-negatif dan bakteremia/septisemia. Jenis antibiotik yang aman beserta dosis terapeutik untuk marmot seperti tercantum pada Tabel 17.

Tabel 17. Antibiotik dan Dosis Terapeutik yang Aman pada Marmot

Antibiotik	Dosis
<i>Ceftiofur</i>	1 mg/kg IM setiap 24 jam (untuk pneumonia)
<i>Cephaloridine</i>	12,5 mg/kg IM setiap 8–24 jam selama 5–14 hari
<i>Chloramphenicol</i>	50 mg/kg PO setiap 12 jam
<i>Chloramphenicol</i>	30-50 mg/kg SC, IM setiap 12 jam
<i>Ciprofloxacin</i>	10-20 mg/kg PO setiap 12 jam
<i>Enrofloxacin</i>	5-10 mg/kg PO, IM setiap 12 jam
<i>Gentamicin</i>	6 mg/kg SC setiap 24 jam (dengan <i>caution</i>)
<i>Metronidazole</i>	10-40 mg/kg PO setiap 24 jam
<i>Neomycin</i>	12-16 mg/kg PO setiap 12 jam
<i>Sulfamethazine</i>	1 mg/ml air minum sampai 60 hari PO
<i>Sulfadimethoxine</i>	10–15 mg/kg PO setiap 12 jam

PO (oral); IM (intramuskuler); SC (subkutan)

Aplikasi obat melalui oral dapat diberikan dengan cara mencampur ke dalam pakan. Injeksi subkutan dapat disuntikkan pada sisi tubuh dan dapat pula dilakukan pada paha, lutut atau leher. Suntikan intramuskuler tidak boleh melebihi 0,5 ml dan harus diberikan pada kaki belakang.

5. Anestesi

Anestesi marmot memerlukan fasilitas dan peralatan khusus (misal *volatile anesthetics*). Prosedur anestesi pada marmot tidak dipuaskan karena marmot tidak mempunyai refleks muntah. Anestesi pada marmot dapat menggunakan gas inhalan atau injeksi obat. Gas inhalan merupakan metode anestesi yang disukai bila memungkinkan. Tubuh marmot

dalam kedaan kondisi teranestesi dijaga selalu dalam keadaan hangat dengan cara ditutup dengan kasa atau handuk atau menyediakan pemanas hingga hewan telah pulih dari anestesi. Jangan pernah meninggalkan hewan dalam kondisi teranestesi tanpa pengawasan.

- a. Prosedur anestesi *Ketamine/Xylazine Acepromazine* (Gourdon & Jimenez, 2009)
 1. Dosis anestesi untuk marmot dapat bervariasi tergantung pada jenis kelamin, umur, *strain* dan kondisi tubuh hewan. Dosis anestesi ketamin 50 mg/kg, *xylazin* 5 mg/kg dan *acepromazin* 1 mg/kg.
 2. Anestesi campuran (*cocktail*) dapat dibuat dalam vial atau botol steril yang terdiri dari campuran:
 - a. Ketamin (100 mg/ml) 5 ml
 - b. Xylazin (20 mg/ml) 2,5 ml
 - c. Acepromazin (10 mg/ml) 1 ml
 - d. *Saline* isotonik steril atau cairan steril untuk injeksi 1,5 ml.
 3. Campuran anestesi *cocktail* dapat disimpan dalam pendingin dengan jangka waktu enam bulan dan harus terlindung dari cahaya.
 4. Dosis anestesi secara intramuskuler atau *intraperitoneal* adalah 0,1 ml per 100 gram berat badan. Injeksi *intraperitoneal* dilakukan pada setengah bagian perut bawah.
 5. Salep mata (air mata natural) harus diberikan pada kedua mata untuk mencegah kekeringan dan kerusakan kornea.
 6. Durasi anestesi sekitar 30 menit dan setelah 30 menit dapat ditambahkan anestesi dengan dosis setengahnya lagi.

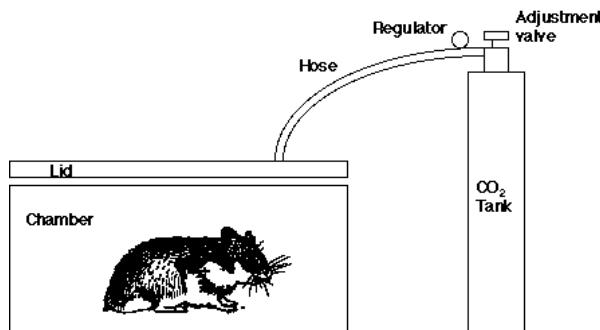
7. Untuk *recovery* dari anestesi, hewan harus diberi penghangat dan dimonitor setiap 5 menit sampai sadar kembali.
- b. Prosedur anestesi Isoflurane (Gourdon & Jimenez, 2009)
 1. *Induksi:*
 - a. Berikan $\frac{1}{2}$ dosis *cocktail* anestesi secara SC, IM atau IP dan tunggu sekitar 5 menit.
 - b. Letakkan hewan pada *chamber* induksi.
 - c. Atur posisi *flowmeter* oksigen dari 0,8 ke 1,5 l/menit.
 - d. Atur posisi *vaporizer isoflurane* 3 ke 5%.
 2. *Pemeliharaan:*
 - a. Gunakan masker tersambung ke *bain circuit* dan atur *flowmeter* 0,4 ke 0,8 l/menit dan *vaporizer isoflurane* 2 ke 2,5%.
 - b. Berikan salep mata (air mata natural) pada kedua mata untuk mencegah kekeringan dan kerusakan pada kornea.
 3. *Pemulihan:*
 - a. Matikan *vaporizer isoflurane* tapi jaga hewan di bawah oksigen.
 - b. Pindahkan hewan ke kandang Ketika hewan sudah mulai bergerak dan tunggu sampai pulih dari anestesi.

6. Eutanasia

Eutanasia pada marmot dapat menggunakan karbon dioksida (CO_2), sodium pentobarbital 100 mg/kg berat badan atau lebih besar secara IV atau IP. Eutanasia komersial (sodium pentobarbital 390 mg + sodium phenytoin 50 mg/ml) tersedia di pasaran seperti Beuthanasia, Euthasol, Fatal-Plus, Somlethal, dosis 0,22 ml/kg dengan aplikasi IV atau IP (86 mg/kg

pentobarbital). Metode dekapitasi atau dislokasi leher pada hewan yang telah dianestesi juga dapat dilakukan. Dislokasi leher pada hewan tanpa anestesi harus dikerjakan oleh personel yang telah memiliki kemampuan teknis tingkat tinggi. Prosedur eutanasia dengan *chamber CO₂* adalah sebagai berikut:

- a. Eutanasia dengan *chamber* sedapat mungkin dilakukan dalam kandangnya dibandingkan dengan cara dipindahkan ke kandang baru atau *chamber* (Gambar 12).
- b. Jangan mengisi ulang kandang atau *chamber* dengan CO₂.
- c. *Valve regulator tank CO₂* dibuka untuk menginisiasi aliran gas.
- d. Verifikasi regulator dengan membaca tekanan yang benar berdasarkan instruksi yang dipasang atau menyesuaikan regulator yang diperlukan untuk tekanan yang benar dan biasanya tidak lebih tinggi dari 5 psi.
- e. Isi *chamber* secara perlahan - laju aliran tidak boleh melebihi 30% dari volume *chamber* per menit.
- f. Tunggu sekitar 3-5 menit sampai hewan berhenti bernapas kemudian matikan tanki CO₂ atau *valve regulator* untuk menghentikan aliran CO₂.



Sumber: Research Animal Resources University of Minnesota (2009)

Gambar 12. Teknik eutanasia CO₂ dengan *chamber* pada marmot

- g. Verifikasi kematian hewan dapat dilakukan dengan cara:
 1. Meraba tidak adanya denyut jantung dengan cara menekan dada menggunakan antara ibu jari dan telunjuk.
 2. Mengamati tidak adanya refleks berkedip dengan menyentuh bola mata. Jika ada detak jantung atau refleks berkedip, ulangi proses eutanasia seperti dijelaskan di atas atau menggunakan gunting untuk membuka rongga dada untuk membuat pneumotoraks (hewan harus non-responsif dengan memencet ujung kaki dengan pinset sebelum melakukan prosedur ini).

III. PERAWATAN PER-OPERATIF DAN PASCA OPERATIF RODENSIA

Perhatian khusus harus diberikan ketika hewan rodensia menjalani pembedahan yang bersifat invasif untuk memastikan pemulihan yang optimal. Ada sejumlah langkah-langkah farmakologis dan nonfarmakologis yang dapat digunakan untuk meningkatkan kenyamanan dan kesejahteraan hewan selama dan setelah pembedahan. Sebagai contoh, tikus dan mencit, memiliki rasio area permukaan yang relatif tinggi dibandingkan dengan rasio bobot badan sehingga suhu tubuh lebih cepat menjadi dingin selama tindakan pembedahan dibandingkan dengan rodensia lainnya. Untuk mengatasi hal tersebut maka perlu diberikan cairan fisiologis yang sesuai pada saat persiapan prosedur pembedahan untuk mengurangi kehilangan panas dan dilanjutkan dengan penggunaan *stockinette* (selimut bedah) selama operasi.

Stockinette bedah (perban pelindung pada tangan dan kaki rodensia) harus steril dan ukurannya dapat disesuaikan dengan hewan rodensia guna meminimalkan hipotermia selama proses pembedahan. Untuk pasca pembedahan, lampu penghangat perlu disediakan di kandang sehingga akan membantu menghangatkan kembali hewan dan memungkinkan hewan bergerak menjauh dari sumber panas jika terlalu panas.

Jaringan tubuh rodensia sangat halus sehingga untuk pembedahan harus menggunakan pisau *clipper* yang tajam untuk menghindari robeknya kulit. Pisau *clipper* dapat dipanaskan untuk menghentikan perdarahan di area pembedahan. Jika hewan diintubasi, maka pemindahan dilakukan dengan hati-hati untuk meminimalkan trauma pada trachea. Tabung intubasi harus dilepas saat memindahkan atau mereposisi hewan rodensia.

Cairan fisiologis dapat diberikan secara subkutan atau *intraperitoneal* sebelum fase pemulihan guna mencegah dehidrasi. Hipoglikemia harus dihindari, dan hewan perlu disediakan pakan pascapembedahan. Suplemen makanan, seperti buah-buahan segar dan sayuran, gandum sereal, suplemen nutrisi cair, atau *hay* segar dapat digunakan. Makanan baru yang akan digunakan untuk meningkatkan nafsu makan harus diperkenalkan ke hewan baik sebelum operasi, untuk mengatasi *neophobia* alami ketika diperkenalkan pakan baru. Perlu untuk memastikan bahwa hewan bebas dari rasa sakit agar timbul nafsu makan dan minum secara alami setelah operasi.

Perawatan individual mungkin diperlukan jika hewan tidak merespons terhadap stimulus yang menyakitkan atau analgesik. Rodensia mungkin tidak memperlihatkan tanda-tanda sakit ketika diobservasi secara visual sehingga perlu diamati melalui jendela atau rekaman video.

Ketika rasa sakit tidak bisa dikendalikan biasanya timbul kondisi *hiperalgesia*, yang jauh lebih sulit untuk diobati sehingga dibutuhkan dosis obat yang lebih tinggi. Penggunaan opioid untuk analgesia, dapat menyebabkan terjadinya depresi pernapasan, sehingga obat ini jarang digunakan. Teknik penggunaan multianalgesia yang menggabungkan penggunaan nonsteroid agen anti-inflamasi dengan opioid dapat digunakan untuk mengurangi dosis kedua jenis obat serta meminimalkan potensi efek samping.

IV. PEMANTAUAN *ENDPOINT* DAN *HUMAN ENDPOINT*

Semua mamalia memiliki jalur *nociceptive* dan mekanisme *signaling* untuk merespons rasa sakit. Rodensia lebih toleran terhadap rasa sakit dibandingkan dengan *non-human primate* atau hewan lainnya. Ketika *endpoint* dipakai pada hewan penelitian dan disetujui oleh komite etika hewan, maka teknik *endpoint* harus dijelaskan secara rinci oleh peneliti dan dikonsultasikan dengan dokter hewan (*attending veteriner/AV*). Sebaiknya dilakukan *endpoint* yang konsisten untuk menghindari rasa sakit dan penderitaan yang lebih lama (CCAC 1998; Demers *et al.*, 2006).

Endpoint dilakukan setelah tidak bisa dilakukan pengobatan pada hewan misalnya dengan penghentian dosis dalam studi toksikologi, atau melakukan eutanasia. *Endpoint* dibuat untuk meminimalisasi *distress* atau penderitaan (Lesko & Atkinson, 2001). Tidak semua *endpoint* dapat diprediksi dan diduga akan terjadi selama penelitian. Penggunaan pilot studi dapat membantu untuk menentukan hasil dan kunci dalam pemantauan periode kehidupan serta membantu teknik optimasi dan pemilihan dosis.

Hewan tidak boleh dibiarkan menderita terlalu lama. Ketika ada ketidaksepakatan tentang *endpoint* maka AV harus diberikan wewenang mengambil keputusan terbaik untuk meminimalkan rasa sakit dan penderitaan. Sebelum dilakukan terminasi hewan maka harus disusun rencana kontingensi di mana kadaver hewan akan disimpan atau jaringan apa saja yang perlu dikoleksi.

Petugas yang bertanggung jawab untuk memantau hewan selama penelitian harus dilatih untuk mengenali perilaku

kondisi hewan yang mengalami nyeri. Hewan yang mengalami kesakitan menunjukkan gejala seperti tercantum pada Tabel 18.

Tabel 18. Indikasi Rasa Nyeri dan *Distress* pada Rodensia

Indikator
<i>Bruxism</i>
Feses lebih sedikit, lebih kecil, atau tidak ada
Mata setengah tertutup atau cekung
Badan melengkung (<i>Piloerection</i>)
Penurunan <i>grooming</i>
Menguap
Mutilasi diri sendiri
Anoreksia dan dehidrasi
Sakit pada punggung, berkedut, kontraksi abdominal
Tingkat pernapasan meningkat
<i>Chromodarcryorrhea</i>
Posisi tubuh berubah (<i>guarding</i>)
Mengeluarkan suara ketika ditangani
Perubahan ekspresi muka (<i>grimacing</i>)
Peningkatan detak jantung dan tekanan darah
Peningkatan agresivitas

PENUTUP

Penggunaan mencit, tikus, kelinci, dan marmot sebagai hewan coba di laboratorium harus memenuhi kaidah kesejahteraan hewan. Untuk memenuhi persyaratan penggunaan hewan coba dalam penelitian, maka semua personel yang menggunakan hewan coba harus mengetahui prosedur penggunaan dan perawatan hewan coba. Panduan perawatan dan penggunaan hewan coba rodensia ini digunakan sebagai acuan para personel dalam penelitian dalam rangka memenuhi persyaratan klirens etik pada penulisan karya tulis ilmiah.

Panduan ini ditulis menggunakan terminologi yang umum digunakan. Komisi Kesejahteraan Hewan Balitbangtan (KKHB) mempunyai peranan kunci dalam menjelaskan, mengimplementasikan, dan mengevaluasi setiap institusi di Balitbangtan dalam penggunaan dan perawatan hewan coba.

Buku panduan ini sudah mengalami penyempurnaan dari edisi sebelumnya melalui penambahan informasi dari publikasi atau literatur terbaru. Namun, tidak menutup kemungkinan adanya pembaruan dari buku panduan ini seiring dengan perkembangan informasi inovasi teknologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Madi, N. 2006. "Anesthesia and Analgesia of Small Mammals: Recent Advances in Veterinary Anesthesia and Analgesia: Companion Animals". In: Gleed RD, Ludders JW, eds. Ithaca (USA): International Veterinary Information Service (www.ivis.org). p. 1-9.
- AFRMA [American Fancy Rat and Mouse Association]. 2016. Nutrient requirement of Mice. USA.
- Banks, R. 1989. "The guinea pig: Biology, care, identification, nomenclature, breeding, and genetics". Dalam USAMRIID Seminar Series 1 Februari 1989. <http://netvet.wustl.edu/species/guineapig.txt>
- Batchelor, G.R. 1999. "The laboratory rabbit". In: Poole T, Editor. UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. 7th Ed.): 395-408.
- Bloebaum, R.D., Merrell M, Gustke K, Simmons M. 1991. "Retrieval analysis of a hydroxyapatite-coated hip prosthesis". Dalam Clin Orthop Relat Res.267:97-102. [PubMed].
- Calasans-Maia, M.D., Antonella M. Rossi, Eliane Pedra Dias, Silvia R. A. Santos, Fabio Ascoli, Jose Mauro Granjeiro. 2008. "Stimulatory effect on osseous repair of zinc-substituted hydroxyapatite: Histological study in rabbit tibia". Dalam Key Eng Mater. 361-363:1269-1272.
- Coulter, C.A., Paul A Flecknell, Mattew C Leach, Claire A Richardson. 2011. "Reported analgesic administration to rabbits undergoing experimental surgical procedures". Dalam BMC Veterinary research 7 (12): 1-6
- Curfs, JHAJ., Chwalibog A, Savenije BS, Ritskes-Hoitinga M. 2011. "Nutrient requirement, experimental design and feeding schedules in animal experimentation". Dalam Handbook of Laboratory of Animal Science chapter 11: 35-40.

- Douglas, R.M., A Neve, J.P. Quipttenbaum, N.M. Alam, G.T. Prusky. 2006. "Perception of visual motion coherence by rats and mice". Dalam Vision research 46 (18): 2842-2847.
- Ferreira, L.M., Bernardo Hochman, Marcus V.J. Barbosa. 2005. "Modelos experimentais em pesquisa. Acta Cir Bras". Dalam 20:28-34. [PubMed]
- Flecknell, P.A. 1998. "Analgesia in Small Mammals". Dalam Semin Avian Exot Pet Med. 7:41-47.
- Guillen, J. 2012. "FELASA guidelines and recommendations". Dalam J Am Assoc Lab Anim Sci. 51:311-321.
- Harris, I.E., Reilly JS, Blackshaw JK, et al. 1995. "Rabbits: Physiological and behavioural housing requirements (Part 2)". Dalam ASLAS Newsletter Spring/Summer. pp. 8-11.
- Hem, A., A.J. Smith, P. Solberg. 1998. "Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig, ferret and mink". Dalam Lab Anim. 32:364-368.
- Hildebrandt, I.J., Helen Su, Wolfgang A Weber. 2008. "Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals". Dalam ILAR J. 49:17-26.
- Huneke, RB. 2012. "Guinea Pigs: Basic experimental methods". In: Suckow MA, Stevens KA, and Wilson RP Editors. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. Elsevier, pp. 621-637.
- ILAR (Institute of Laboratory Animal Research Commission on Life Sciences, National Research Council). 1996. *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington (DC): National Academy Press. p. 140.
- Kawakami, K., Takashi Takeuchi, Shinpei Yamaguchi, Akio Ago, Masato Nomura, Tatsuo Gonda, et al. 2003. "Preference of guinea pigs for bedding materials: wood shavings versus paper cutting sheet". Dalam Exp Anim. 52:11-5.

- Love, J.A. 1994. "Group Housing: Meeting the Physical and Social Needs of the Laboratory Rabbit". Dalam *Lab Anim Sci.* 44:5-11.
- Morton, D.B., M Jennings, G.R. Batchelor, et al. 1993. "Refinements in rabbit husbandry: second report of the BVAWF / FRAME / RSPCA / UFAW joint working group on refinement". Dalam *Lab Anim.* 27:301-329.
- NC3R (National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animal in Research). <http://nc3rs.org.uk>.
- Obernier, J.A. & Ransom L Baldwin. 2006. "Establishing an appropriate period of acclimatization following transportation of laboratory animals". Dalam *ILAR Journal.* 47:364-369.
- Ograin, V. 2011. "Nutrition know-how: pet rabbit nutrition". Dalam *Veterinary technician.* Vol 32 (9). (Internet). Available from <https://www.vetfolio.com/learn/article/nutrition-know-how-pet-rabbit-nutrition>
- [OLAW] Office of Laboratory Animal Welfare. 2002. *Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook.* USA: OLAW
- Paddleford, R. 2000. *Small Animals Anesthesia.* Milano-Cremona (Italy): Masson.
- Panksepp, J. & J. Burgdorf. 2000. "50 kHz chirping in response to conditioned and unconditioned tickle induced rewards in rats: effect of social housing and genetic variables". Dalam *Behavioural Brain Research.* 115 (1): 25-38.
- Parasuraman, S., R. Raveendran, R. Kesavan. 2010. "Blood sample collection in small laboratory animals". Dalam *J Pharmacol Pharmacother.* 1:87-93.
- Patterson-Kane, EG. 2002. "Cage size preference in rats in the laboratory". Dalam *Jl Appl Anim Welf Sci.* 5:63-72.
- Pearce, AI., R.G. Richards, S. Milz, E. Schneider, S.G. Pearce. 2007. "Animal models for implant biomaterial research in bone: A review". Dalam *Eur Cell Mater.* 13:1-10.

- Podberscek, AL, Blackshaw JK, Beattie AW. 1991. "The effects of repeated handling by familiar and unfamiliar people on rabbits in individual cages and group pens". Dalam *Appl Anim Behav Sci.* 28:365-73.
- Puspani, E., Roni NGK, & Nurisya IM. 2015. "Performans dan Indeks kelembaban Suhu Kelinci jantan (*Lepus negricollis*) yang dipelihara dengan luas lantai kandang dan diberi ransum denganimbangan Energi dan Protein berbeda. Dalam *Majalah Ilmiah Peternakan.* 18 (1): 1-4.
- Quesenberry, K.E., & Carpenter JW. 2004. *Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery.* St Louis: Saunders (USA): Elsevier.
- Quesenberry, KE., & Kenneth R. Boschert. 2020. *Description and Physical Characteristics of Rats. MSD veterinary manual.* Merck & Co. USA.
- Rao, S., & A.S. Verkman. 2000. "Analysis of organ physiology in transgenic mice". Dalam *Am J Physiol Cell Physiol.* 279:C1-C18.
- Research Animal Resources University of Minnesota. 2009. "Euthanasia Guidelines". Available at <http://www.ahc.umn.edu/rar/euthanasia.html>
- Schanaider, A. & Paulo Cesar Silva. 2004. "The use of animals in experimental surgery". Dalam *Acta Cir Bras.* 19:441-447.
- Scharmann, W. 1991. "Improved housing of rats, mice and guinea pigs: a contribution to the refinement of animal experiments". Dalam *ATLA.* 19:108-114.
- Shimizu, S. 2004. "Routes of administration". Dalam *The Laboratory mouse (Handbook of experimental animals) chapter 32.* Elseviere. pp. 527-541.
- ULAM [Unit for Laboratory Animal Medicine]. 2020. *Guidelines on anesthesia and analgesia in rats.* Michigan (USA): Unit for Laboratory Animal Medicine.

- Vitalo, A.G., Sasinkant Gorantlas, Jonathan G Frichione, et al. 2012. Environmental enrichment with nesting material accelerates wound healing in isolation reared rat. Behavioural Brain Research. 226 (2): 606-612.
- Whary, M., Randall Peper, Gary L Borkowski, et al. 1993. "The effects of group housing on the research use of the laboratory rabbit". Dalam Lab Anim. 27:330-341.
- Zutphen, L.F.M., Baumans V, & Beynen AC (Eds). 1993. *Principles of laboratory animal science*. Amsterdam (Nederland): Elsevier Science. pp. 17, 34, 35, 40-44.

GLOSARIUM

<i>α2 agonist</i>	: Kelas agen simpatomimetik yang secara selektif merangsang reseptor adrenergik alfa
<i>Agonistic</i>	: Perilaku apa pun yang terkait dengan perkelahian
<i>Alopecia</i>	: Kurangnya sebagian atau seluruh rambut di area yang biasanya ada rambutnya
<i>Altricial</i>	: Mamalia yang lahir dalam keadaan belum berkembang
<i>Analgesia</i>	: Obat untuk mengurangi atau menghilangkan rasa sakit atau pereda nyeri
<i>Anoreksia</i>	: Penurunan atau hilangnya nafsu makan
<i>Appetitive</i>	: Aktivitas yang meningkatkan kemungkinan untuk memuaskan kebutuhan tertentu, seperti pencarian makanan predator yang lapar
<i>Aterosklerosis</i>	: Radang pada pembuluh darah yang disebabkan penumpukan plak ateromatus
<i>Auskultasi</i>	: Istilah teknis untuk mendengarkan suara dalam internal tubuh, biasanya menggunakan stetoskop
<i>Barbering</i>	: Perilaku berulang yang tidak normal pada tikus dengan mencabuti bulu atau kumis dari hewan dalam satu kandang atau dirinya sendiri
<i>Bevel</i>	: Bagian miring dari ujung jarum untuk disuntikkan ke dalam vena
<i>Brace</i>	: Tulang belakang
<i>Bruxism</i>	: Mengepalkan gigi pada waktu lain selain ketika mengunyah makanan
<i>Chromodarcryorrhea</i>	: Air mata tikus berwarna merah disebabkan pigmen porfirin yang disekresikan oleh kelenjar harder
<i>Dekapitasi</i>	: Pemisahan total kepala dari tubuh

Despatik	:	Penguasa tunggal
Dislokasi	:	Metode umum eutanasia hewan
Disosiasi	:	Pemecahan molekul dalam proses kimia yang menghasilkan satu atau lebih molekul lain
<i>Endocavitary</i>	:	Di dalam rongga tubuh/organs (misalnya, atrium, rektum, vagina)
<i>Endpoint</i>	:	Titik di mana rasa sakit dan/atau kesusahan hewan percobaan dihentikan, diminimalkan atau dikurangi dengan mengambil tindakan seperti membunuh hewan tersebut
<i>Epigenetic</i>	:	Studi tentang modifikasi kimiawi dari gen tertentu atau protein terkait gen dari suatu organisme
Eksanguinasi	:	Menghilangkan darah sampai tingkat yang cukup untuk menyebabkan kematian
<i>Grooming</i>	:	Tampilan prima
Habituasi	:	Pembiasaan atau penyesuaian dengan hewan agar menjadi terbiasa
Hematoma	:	Pembengkakan lokal yang berisi darah yang disebabkan oleh pecahnya dinding pembuluh darah
Hipoksemia	:	Kadar oksigen yang terlalu rendah pada darah
Hipovolemia	:	Penipisan volume cairan ekstraseluler
Histamin	:	Amina heterosiklik, C ₅ H ₉ N ₃ , yang dilepaskan oleh sel mast ketika jaringan terluka atau dalam reaksi alergi dan inflamasi, menyebabkan pelebaran pembuluh darah kecil dan kontraksi otot polos
<i>Hyperalgesia</i>	:	Peningkatan kepekaan terhadap nyeri atau peningkatan intensitas sensasi nyeri
<i>Hyporesponsiveness</i>	:	Tingkat respons yang berkurang (seperti rangsangan fisik atau emosional)
<i>Hypodermic</i>	:	Segala sesuatu yang berhubungan dengan bawah kulit

<i>Hypovolemia</i>	:	Penurunan volume darah yang bersirkulasi dalam tubuh
<i>Inervasi adrenergic</i>	:	Memodulasi neurotransmisi kolinergik saraf sensorik yang dapat mempengaruhi transmisi saraf di ganglia parasimpatis dan di saraf pasca-ganglionik
<i>Intestinalileus</i>	:	Terganggunya kemampuan pendorong normal usus karena kerusakan peristaltik
<i>Intracavitary</i>	:	Terletak atau terjadi di dalam rongga tubuh
<i>Intubasi</i>	:	Prosedur medis yang memasukkan tabung sebagai alat bantu pernapasan ke dalam tenggorokan
<i>Isogenic</i>	:	Memiliki genotipe yang sama atau sangat mirip
<i>Lateral</i>	:	Permukaan bagian tubuh yang menghadap jauh dari garis tengah
<i>Malocclusion</i>	:	Posisi gigi yang tidak normal
<i>Mechanosensory</i>	:	Transduksi rangsangan mekanis menjadi sinyal saraf
<i>Nekropsi</i>	:	Pemeriksaan atau otopsi postmortem
<i>Neophobia</i>	:	Ketakutan akan sesuatu yang baru, terutama ketakutan yang terus-menerus dan tidak normal
<i>Nociceptive</i>	:	Persepsi atau sensasi nyeri
<i>Opioid</i>	:	Kelas obat yang digunakan untuk mengurangi rasa sakit
<i>Over distensi</i>	:	Berburu hewan secara berlebihan sehingga menjadi langka
<i>Peritonitis</i>	:	Peradangan pada peritonium
<i>Photoperiodism</i>	:	Respons yang mempengaruhi pertumbuhan atau reproduksi suatu organisme terhadap lamanya paparan cahaya dalam periode 24 jam
<i>Piloereksi</i>	:	Bulu yang terangkat di pundak, di sepanjang punggung dan (terkadang) ekor

<i>Poikilotherm</i>	: Suhu tubuh berubah mengikuti suhu di sekitarnya
<i>Poligenik</i>	: Sifat yang dikendalikan lebih dari satu gen
<i>Posterior abdomen</i>	: Wilayah anatomi tubuh yang dibentuk oleh vertebra lumbal, korset panggul, otot perut posterior dan fasia yang terkait
<i>Ptialisme</i>	: Produksi air liur yang berlebihan
<i>Quadricep</i>	: Otot besar di depan paha
<i>Regurgitasi</i>	: Mengelurkan makanan dari faring atau kerongkongan, biasanya ditandai dengan adanya makanan yang tidak tercerna.
<i>Restrainer</i>	: Alat yang dipakai untuk melumpuhkan hewan untuk menghindari pergerakan
<i>Retro-orbital</i>	: Belakang orbit atau mata
<i>Sedativa</i>	: Zat yang menyebabkan sedasi dengan mengurangi iritabilitas
<i>Sciatic</i>	: Saraf yang berasal dari tulang belakang bagian bawah tempat akar saraf keluar dari sumsum tulang belakang dan meluas ke bagian belakang kaki hingga jari kaki
<i>Scuffing</i>	: Kulit kendur di bagian belakang leher beberapa hewan
<i>Sedasi</i>	: Depresi sistem saraf pusat yang berakibat kelesuan dan kurangnya aktivitas mental
<i>Sianosis</i>	: Warna kebiruan pada selaput lendir dan/atau kulit
<i>Sociozoologic</i>	: Sistem makna yang menempatkan spesies sebagai baik atau buruk menurut nilai sosial, budaya, dan moralnya bagi manusia
<i>Stockinette</i>	: Kain katun yang lembut elastis biasanya digunakan khusus untuk perban
<i>Takikardia</i>	: Detak jantung lebih dari 100 denyut per menit
<i>Transgenic</i>	: Organisme yang mengandung gen dari organisme lain yang dimasukkan ke dalam genom melalui teknik DNA rekombinan

Transkripsi	: Langkah pertama ekspresi gen di mana polimer RNA dibuat dari templat DNA
<i>Transquilizer</i>	: Obat yang memiliki efek penenang atau menenangkan tanpa menyebabkan tidur
<i>Tourniquet</i>	: Alat apa pun untuk menahan pendarahan dengan menekan paksa pembuluh darah, sebagai perban yang dikencangkan dengan cara diputar
<i>Vasodilatasi</i>	: Dilatasi pembuluh darah
<i>Vaporizer</i>	: Alat yang digunakan untuk menguapkan zat untuk dihirup
<i>Vibrissae</i>	: Rambut kaku panjang yang tumbuh di sekitar mulut atau di tempat lain di wajah mamalia yang digunakan sebagai sensor sentuhan
<i>Vomeronasal</i>	: Berkaitan dengan vomer dan daerah hidung dan terutama dengan organ vomeronasal atau tulang rawan vomeronasal

INDEKS SUBJEK

A

adjuvant, 69, 70
administrasi, 29, 50, 53, 67, 68,
71
amelanotic, 33
analgesia, 12, 25, 28, 29, 49, 50,
51, 58, 71, 72, 79, 92, 99
anemia, 43, 64
anestesia, 12, 24, 25, 26, 27, 31,
37, 42, 53, 54, 65, 74, 82, 83,
84, 87, 88, 89
antibiotika, 30, 51, 73, 78, 85
antiinflamasi, 29, 50
arteri, 42, 44, 63, 64, 65, 66, 71,
81
atropin, 25
auskultasi, 52, 103
avertin, 25

B

bakteremia, 85
barbiturat, 53
bedding, 9, 37, 77, 99

C

cardiac puncture, 81, 84

D

darah, 14, 15, 18, 22, 28, 33, 40,
41, 42, 43, 45, 46, 50, 52, 61,
62, 63, 64, 65, 66, 68, 69, 70,
71, 81, 82, 83, 84, 85, 94, 103,
104, 105, 107
dekapitasi, 30, 32, 85, 89
desinfektan, 13, 56
dislokasi leher, 30, 31, 52, 89
distress, 43, 49, 52, 93

E

eksanguinasi, 66
ekskresi, 24
endpoint, 52, 93
eutanasia, 30, 31, 52, 53, 68, 73,
74, 84, 89, 90, 93, 104

G

gavage, 67
gen, 5, 104, 106, 107

H

hematokrit, 18, 46, 64
hematoma, 46
hemostasis, 66
hewan coba, 1, 3, 4, 5, 54, 75,
78, 95
hipoglikemia, 25

hipotermia, 24, 91

hipovolemia, 42

histamin, 33

I

identifikasi, 11, 35, 37, 58, 59, 78

inhalan, 25, 31, 86

inhalasi, 25, 27, 30, 48, 53

injeksi, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 50, 53, 62, 68,

69, 70, 71, 86, 87

intracardial, 64, 66, 67

Intradermal, 70

intramuskuler, 21, 22, 25, 26, 66, 69, 86, 87

intraperitoneal, 20, 31, 42, 87

intravena, 22, 23, 26, 31, 42, 53, 62, 68, 74

K

kadaver, 93

kandang, 7, 8, 9, 12, 13, 35, 36, 37, 38, 52, 55, 56, 58, 59, 62, 76, 77, 78, 79, 83, 88, 89, 103

kardiovaskular, 25

kastrasi, 7, 8

kelinci, 4, 5, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 74, 78, 95

ketamin, 24, 25, 27, 31, 53, 66, 87

koleksi, 14, 15, 16, 17, 18, 41, 46, 61, 64, 65, 71, 81, 82, 83, 84, 85

koprofagia, 10

kortikosteroid, 24

L

lidocaine, 29, 37, 50, 65

M

marmot, 4, 5, 33, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 95

mencit, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 50, 51, 73, 81, 95

microchip, 12, 37, 58, 78

N

nekropsi, 52, 74

neophobic, 11

nociceptive, 93

nocturnal, 6, 10, 11

O

opioid, 29, 50, 92

P

pentobarbital, 25, 31, 73, 74, 88

piloereksi, 33

plasma, 24, 42

poligenik, 10

R

rambut, 7, 56, 103
reproduksi, 1, 5, 75, 77, 105
restraint, 59, 61, 62, 65, 68, 69,
79, 80
retro-orbital, 31, 46
rodensia, 3, 4, 29, 30, 31, 50, 53,
81, 85, 95

S

scruffing, 40
septikemia, 85
signaling, 93
sociozoologic, 93
sternum, 66
stockinette, 91, 106
strains, 5, 6, 10, 24, 54, 83
stres, 8, 12, 33, 38, 40, 42, 43,
56, 59, 73, 77, 79, 81
subkutan, 12, 20, 21, 42, 65, 70,
86

T

tanda, 11, 43, 58, 68, 78, 92
tattoo, 12, 37, 58, 78
tikus, 4, 5, 18, 31, 32, 33, 34, 35,
36, 37, 38, 39, 40, 45, 46, 48,
49, 52, 53, 62, 74, 81, 91, 95,
103
tourniquet, 45, 46

V

vasodilator, 83
vena, 18, 19, 44, 45, 64, 65, 68,
81, 83, 84, 103
vibrissae, 6, 33
vomeronasal, 34, 107

W

wire mesh, 36

X

xylazine, 27, 31

Penanganan Rodensia dalam Penelitian Sesuai Kaidah Kesejahteraan Hewan

Hewan coba rodensia merupakan komponen penting dari penelitian biomedis dan merupakan bagian penting dari upaya untuk mencegah, menyembuhkan, dan mengobati berbagai macam penyakit. Para peneliti menggunakan rodensia untuk mempelajari penyakit dan memerangi penyakit baru. Penelitian menggunakan hewan tidak hanya menguntungkan manusia namun juga menguntungkan hewan itu sendiri, baik secara langsung karena kesehatan hewan merupakan subjek penelitian atau tidak langsung karena prosedur dan perlakuan yang sama yang digunakan pada manusia dapat digunakan pada hewan.

Tujuan penulisan buku “Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia dalam Penelitian sesuai dengan Kesejahteraan Hewan” adalah untuk membantu peneliti dalam merawat dan menggunakan hewan rodensia dengan cara yang dinilai secara ilmiah, secara teknis, dan manusiawi. Buku ini juga dimaksudkan sebagai panduan untuk membantu peneliti dalam memenuhi kewajiban mereka untuk merencanakan dan melakukan percobaan pada hewan sesuai dengan prinsip ilmiah, manusiawi, dan etika tertinggi. Panduan ini didasarkan pada data yang dipublikasikan, prinsip ilmiah, pendapat ahli, dan pengalaman dengan metode dan praktik yang telah terbukti konsisten dengan penelitian berkualitas tinggi serta perawatan dan penggunaan hewan yang manusiawi.

Hewan coba rodensia yang dimaksud dalam panduan ini adalah mencit, tikus, marmot dan kelinci. Panduan menjelaskan latar belakang dan dasar pertimbangan penggunaan hewan coba rodensia dan tata cara perawatan dan penanganan rodensia dalam penelitian dan pengkajian serta menjelaskan bagaimana melakukan koleksi darah, pemberian pengobatan, anestesi, eutanasia dan pembedahan.



**IAARD
PRESS**

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Jalan Ragunan No. 29, Pasar Minggu, Jakarta 12540
Telp: +62 21 7806202, Faks.: +62 21 7800644

ISBN 978-602-344-326-0



9 786023 443260